

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**Estudio experimental de la reacción de homoinjerto cutáneo
bajo la influencia de diferentes drogas**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Luis García-Sancho Martín

Madrid, 2015

R. 62993.

TA 2195

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

CATEDRA DE PATOLOGIA QUIRURGICA I

Prof.Dr. DURAN SACRISTAN



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
5320167792

" ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA REACCION
DE HOMOINJERTO CUTANEO BAJO LA IN-
FLUENCIA DE DIFERENTES DROGAS"

LUIS GARCIA-SANCHO MARTIN

Madrid.- 1972

SUMARIO

	PAGINA
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS.	1
CAPITULO I.- Introduccion y estado actual del problema.	5
CAPITULO II.- Justificacion del tema ele- gido.	13
CAPITULO III.- Evolucion historica de la Inmunologia y su concepto.	17
CAPITULO IV.- Panorama inmunológico gene- ral.	30
CAPITULO V.- Inmunidad humoral.	42
CAPITULO VI.- Inmunidad celular.	74
CAPITULO VII.- Tolerancia inmunológica.	88
CAPITULO VIII.- Ontogenia y filogenia de los mecanismos inmunológicos	102
CAPITULO IX.- Bosquejo histórico de los -- trasplantes de órganos y te- jidos.	115
CAPITULO X.- Inmunidad de trasplante.	131
CAPITULO XI.- Modificación de la Inmunidad de Trasplante.	171
CAPITULO XII.- Material y métodos.	211
CAPITULO XIII.- REsultados obtenidos.	230
CAPITULO XIV.- Comentario y discusión de los resultado obtenidos.	292

PAGINA

CAPITULO XV.- Resumen y conclusiones. 359

BIBLIOGRAFIA

ICONOGRAFIA

A MARTA, mi mujer.

A MARTA y LUIS, mis hijos.

AGRADECIMIENTOS.-

Antes de entrar en la materia objeto de este estudio, queremos hacer constar nuestro agradecimiento sincero a cuantas personas, de forma directa o indirecta, nos ayudaron en su realizacion.

A Marta, mi mujer, por su permanente colaboracion, su comprension y las constantes palabras de ánimo en momentos difíciles, así como la realizacion de cuantos esquemas y dibujos ilustran este trabajo.

A mi padre, de quien siempre he admirado su bondad, su modestia, su sencillez, su espíritu de sacrificio, su amor al trabajo, su entrega a los demás.

A mi madre, siempre viva en el recuerdo, quien hubiese gozado de una íntima satisfaccion y una profunda alegría al ver concluida esta tesis doctoral.

A mi hermano Javier, con profunda vocacion de investigador, que tanto nos ha estimulado en ~~las~~ tareas de investigacion y nos ha ayudado en la resolucion de problemas inherentes a este campo.

Al Profesor Durán Sacristan, director de esta tesis, de quien hemos recibido día a día, desde hace ya muchos años, con formas de gran Maestro, no solo las enseñanzas teóricas y prácticas del quehacer quirúrgico, sino tambien muestras constantes de su profunda calidad humana y profesional, de su auténtica voación universitaria. La Universidad y la Cirugía, constituyen el eje de su vida, al que dedica todo su gran saber y su enorme competencia, sin ahorzar sacrificios, con abnegación, con amor, con responsabilidad y con honradez. El nos ha dado cuanto tenemos y mucho más que no hemos sabido aprovechar.

Al Departamento Central de Anatomía Patológica del Hospital Clínico de San Carlos, que dirige el Profesor Bullón, por habernos permitido la realizacion del estudio histopatológico de las piezas obtenidas en el presente trabajo.

De un modo especial al Dr. Carrascal, que ha colaborado estrechamente con nosotros en la preparación e interpretación de los cortes histológicos.

A todos los médicos que componen la gran familia de la Cátedra del Profesor Durán, por su constante ayuda, de una u otra manera. De una forma especial a los Dres. Sierra Arredondo y Francia Sánchez por su colaboración en la anestesia de los animales de experimentación.

A las enfermeras y monjas del servicio que nos prestaron su ayuda, especialmente a la Srta. Romano, por su interés en prepararnos el instrumental y material de sutura empleados.

A D. Arcadio Gonzalez, encargado del cuidado de los animales de experimentación y de los quirófanos de Cirugía Experimental, que tan valiosa ayuda nos ha prestado, enseñándonos a manejar los animales y colaborando diariamente en la administración de las drogas suministradas a los mismos.

Al Sr. Casado, quien ha realizado toda la labor fotográfica que se acompaña.

A los Profesores de la Facultad de Medicina de Valladolid, que tomaron parte en nuestra formación y de quienes recibimos grandes enseñanzas.

A nuestros compañeros de estudio, especialmente del Colegio Mayor Santa Cruz, por la influencia que tuvieron en la orientación de nuestra vida y aficiones, dando firmeza a nuestra vocación en largas horas de convivencia.

Al Ilustre Tribunal, que ha tenido la amabilidad de atender y juzgar este trabajo de investigación que hoy presentamos.

A todos muchas gracias.

END OF I

INTRODUCCION Y ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA.-

Desde los tiempos mas antiguos, el hombre intenta luchar contra las enfermedades y es un viejo sueño de la Humanidad el prolongar la vida y procurar mantener ésta en las mejores condiciones de salud. Para conseguirlo se han empleado los procedimientos más diversos (81), llegando en la actualidad a trasplantar órganos con éxito, en el intento de salvar la vida o aliviar los sufrimientos de los enfermos.

El trasplante de órganos constituye, en el momento actual, el medio más espectacular para prolongar la vida del hombre enfermo, siempre que el organismo receptor sea capaz de vivir con el órgano trasplantado, pues resultaría absurdo trasplantar un órgano útil a un organismo que no esté en condiciones de disfrutar los beneficios aportados por el buen funcionamiento del órgano trasplantado (SCHETTLER y FRANZ, 1970), (242).

Indudablemente el trasplante de órganos conlleva una problemática muy compleja (COOLEY, et al., 1970) (52): problemas de orden técnico, de orden ético, (GRÜNDEL, 1969), (110), de orden moral, de orden legal, de orden filosófico, etc., pero uno de los mayores problemas lo constituye el problema inmunológico, pues salvo en circunstancias muy especiales el organismo receptor trata de deshacerse del órgano trasplantado por considerarlo como extraño a su "personalidad biológica". El problema del "rechazo" constituye una barrera inmunológica estudiada por investigadores de todo el mundo, para encontrar soluciones que permitan franquearla y conseguir que el organismo receptor acepte como propio el órgano extraño trasplantado.

suero antilinfocítico, (MONACO, 1971) (196), (WOODRUFF, 1969) (301).

D.- Creacion de un estado de no-reactividad inmunológica específica, (VAN LOGHEM, 1969) (288) o de tolerancia inmunológica adquirida (BILLINGHAN, BRENT y MEDAWAR) (25), administrando grandes dosis de antígeno soluble (high-dose tolerance) (VAN LOGHEM 1969) (288) o dando cantidades mínimas del antígeno (lowdose tolerance) (MITCHISON, 1969) (193) o bien administrando inmunodepresores para crear un estado de no-reactividad inespecífica junto al antígeno para obtener una inmunotolerancia específica.

E.- Un fenómeno similar al de la tolerancia es el de la "amplificación inmunológica" (UHR y MOLLER, 1968) (284) (BATCHELOR, 1968) (16), VOISIN, 1970) (292) (MILLER, 1971) (190), también denominado "facilitación inmunológica", conseguido mediante el tratamiento del receptor con anticuerpos humorales específicos contra los antígenos de transplante del donante.

Estos son, a grandes rasgos, los procedimientos disponibles en la actualidad para frenar el rechazo inmunológico y conseguir la supervivencia de los órganos trasplantados. Ninguno de ellos, en este momento, es definitivo, siendo necesario proseguir las investigaciones a fin de mejorar los procedimientos de suprimir la respuesta inmunológica ante los órganos o tejidos trasplantados e incluso llegar a conocer con exactitud la génesis íntima del rechazo.

Los métodos encaminados a disminuir la antigenicidad del órgano trasplantado tienen el gran inconveniente de producir graves lesiones celulares que comprometen su vitalidad. Su utilidad esta en razón inversa del grado de funcionalidad que se espere del trasplante y del daño celular adicional (PEREZ TAMAYO et al., 1968) (219). En los trasplantes de piel estos procedimientos pueden tener alguna aplicación práctica (PALACIOS y GOMEZ, 1958) (216), pero en órganos mas complicados su utilidad es muy escasa.

La selección de donantes es imprescindible en el estado actual de nuestros conocimientos. Sin embargo la complejidad del sistema H.L.A. en el hombre es tal, que según DAUSSET (1971) (63), se necesitan 3.206 individuos para tener la oportunidad en un 95% de encontrar un receptor compatible para los antígenos A y B del sistema ABO y para los 26 antígenos conocidos del sistema H.L.A.. Por otra parte teniendo en cuenta que algunos antígenos del sistema H.L.A. presentan reacciones cruzadas, si estas reacciones cruzadas se consideran como identidades antigénicas, los 3.206 individuos se rebajan a 500, pero incluso en personas H.L.A. idénticas desde el punto de vista serológico, cuando se realiza un cultivo mixto de sus linfocitos se obtiene una respuesta positiva (REVILLARD, 1971) (234), es decir que la identidad fenotípica, tal como se reconoce en la actualidad, no excluye la incompatibilidad (DAUSSET, 1971) (63).

La irradiación general, si bien resulta útil en algunos casos, puede resultar muy peligrosa por lo efectos secundarios que conlleva, muy especialmente la depresión de la médula ósea que puede originar la muerte. Con el fin de evitar esta depresión medular se ha recurrido a la inyección de médula ósea alogénica del mismo donante que el órgano, para obtener una "quimera" por irradiación. Sin embargo la quimera resulta inestable y en último término tiene lugar la recolonización por los elementos del huésped y la eliminación del tejido trasplantado; si esto no ocurre, se co-

rre el riesgo de que se produzca una reacción injerto-
contra-huesped (Graft-versus-host ó G-V-H) que puede lle-
var a la muerte del individuo. En la actualidad la irra-
diación general no se utiliza.

La irradiación local, sobre los ganglios linfáticos re-
gionales es de un resultado escaso. Experimentalmente se
ha utilizado la administración intravenosa de ^{90}Y (Y 90)
o la colocación de una cápsula emisora de radiaciones
en la aurícula derecha, obteniéndose una deplección lin-
focitaria notable. Mas recientemente (HOLLARD, 1970) (123)
se emplea la irradiación extracorpórea de los linfocitos
del conducto torácico (CRONKITE) o la irradiación extra-
corpórea de la sangre periférica con rayos X; con radia-
ciones β (^{90}Sr e ^{90}Y), muy utilizadas por los anglosa-
jones; con radiaciones γ (^{60}Co y ^{137}Cs), mas difícil de
dosificar que las radiaciones β ; y con rayos ultraviole-
ta (BINET et al., 1968) (27). Los resultados han sido con-
tradictorios, pero puede ser un método interesante, aunque
complejo, para obtener una inmunodepresión.

La inmunodepresión por drogas se utiliza ampliamente en
la actualidad desde que SCHWARTZ (245) descubriera en
1958 el poder depresor de la 6-mercaptopurina sobre la
síntesis de anticuerpos. Desde entonces casi a diario, se
descubren nuevos agentes inmunosupresores. En una recien-
te revisión sobre la eficacia de los mismos, realizada por
BACH (8), los mas efectivos han sido la Azatioprina (Imu-
rel) (6-(1-metil-4-nitro-imidazol-5-iltio)purina), deriva-
do de la 6-mercaptopurina; la Ametopterina (Methotrexate)
(4-amino-N-10-metil-pteril glutámico); el Clorambucil
(Leukeran) (ácido p(bis-cloro-2-etil-amino) fenil-butírico)
derivado de las mostazas-nitrogenadas; la Ciclofosfamida
(Genoxal) (Ester N.N.-bis (β -cloroetil)-N'-O-propilénico
de la diamida del ácido fosfórico) y el suero antilinfociti-
co entre los agentes conocidos. Entre los productos nuevos,
las polirribonucleasas (MOWBRAY, 1967) (203), la l-Aspara-
ginasa (Astaldi et al., 1969) (5) y la Fito-hemaglutinina

(MARKLEY et al., 1969) (164), (SOLASSOL et al., 1971) (258), son los que ofrecen mejores perspectivas. BACH (8), duda de una acción inmunosupresora de los corticoides a las dosis empleadas, aunque se trata de un agente muy eficaz.

A pesar de la eficacia de las drogas inmunosupresoras, existen muchas incógnitas sobre su mecanismo de acción su farmacología etc., e indudablemente su empleo tiene una serie de inconvenientes (MONACO, 1971) (196): hepatotoxicidad del Imurán; diabetes, osteoporosis, úlceras digestivas etc. con el uso de corticoides; peligro de infecciones, mayor incidencia de tumores malignos, etc. Por ello es preciso proseguir la investigación y descubrir nuevos agentes inmunodepresores sin los inconvenientes de los actuales (BACH, 1971) (8).

El empleo de métodos biológicos, tales como la linfadenectomía regional o la esplenectomía han demostrado un escaso valor inmunodepresor. El drenaje del conducto torácico origina una deplección linfocitaria parcial y pasajera, pero puede ser útil como medida asociada al empleo de drogas (REVILLARD, 1971) (232) por su inocuidad y por su valor como fuente de antígenos para preparar S.A.L.. La timectomía neonatal es un proceder experimental poco útil en la clínica humana. La timectomía en el adulto es mucho menos efectiva que en el recién nacido.

El Suero Antilinfocítico heterólogo en el que se tenían puestas muchas esperanzas, ha causado un poco de decepción (BACH, 1971) (8) en su efecto inmunodepresor en el hombre, lo que quizá se deba a que se emplee a dosis inferiores a las utilizadas experimentalmente. El uso de Suero Antilinfocítico no está exento de riesgo, ya que por contener proteínas heterólogas da lugar a la formación de anticuerpos, con la posibilidad de que se presenten fenómenos anafilácticos y lesiones renales por

deposición de complejos antígeno-anticuerpos en los glomérulos (STARZL, 1970) (266). La purificación del Suero Antilinfocítico heterólogo obteniendo las G.A.L. y la utilización de estas, tampoco está exenta de riesgos por la posibilidad de producir lesiones renales -- cuando se usan continuamente. No obstante, su empleo ha representado un avance importante en el método de la inmunosupresión inespecífica, pues permite disminuir las dosis de otras drogas y aminorar los efectos secundarios de estas.

El camino de la tolerancia inmunológica específica obtenida en el adulto mediante la administración de antígenos solubles purificados parece el camino más lógico a seguir, pues no altera la reactividad inmunológica del receptor hacia otros antígenos. Sin embargo aún falta mucho camino por recorrer para obtener los antígenos en estado de pureza y utilizar el procedimiento, con garantías, en la clínica humana.

La "amplificación inmunológica" o "facilitación" se encuentra en fase experimental, pero sus resultados son alentadores (STUART, et al., 1968) (269), (FRENCH y BATCHELOR, 1969) (88) y el éxito de este procedimiento empieza a dar frutos en clínica humana en la profilaxis de la enfermedad Rh, suprimiendo la respuesta inmunitaria mediante la administración de anticuerpos específicos.

La Cirugía Experimental en el trasplante de órganos (DESCOTES, 1970) (71) desempeña un importantísimo papel por un doble motivo: Entrenamiento del cirujano -- en las técnicas de trasplante por una parte y posibilidad de investigación por otra, permitiendo poner a punto nuevas técnicas, estudiar la supervivencia de los trasplantes en diversas circunstancias, ensayar

tratamientos inmunosupresores nuevos o mal conocidos y estudiar la función de los órganos trasplantados. - Una contribución importante de la cirugía experimental al problema de los trasplantes ha sido y es la posibilidad de estudiar la conservación de órganos, motivo - que ocupa la atención de un gran número de investigadores (302), con la finalidad de llegar a conseguir un banco de órganos y a la conservación de los mismos durante un tiempo ilimitado (DESCORES, 1970) (72). Gracias a la cirugía experimental se ha conseguido poner a punto una serie de procedimientos de conservación - que en la actualidad comienzan a dar sus frutos (FLOKERT y BELZER, 1971) (87) en investigaciones sucesivas permitieran aumentar el tiempo de supervivencia de órganos aislados.

Aún cuando la cirugía de trasplantes de órganos no llegará nunca a ser una labor rutinaria de todos los cirujanos, por la enorme complejidad que entraña (problemas técnicos, colaboración de especialistas variados, muchos materiales muy costosos, etc.), creemos que está justificada siempre y cuando de ella se derive un beneficio para nuestros semejantes. Entraña el problema de toda la medicina moderna: Cada vez son necesarios más médicos para atender a un número menor de pacientes, y solamente puede llevarse a cabo en grandes centros hospitalarios, con dotación material y personal suficientes como para emprender tal tipo de cirugía con posibilidades de éxito.

CAPITULO II

JUSTIFICACION DEL TEMA ELEGICO.-

Dada la panorámica, brevemente expuesta, del estado actual del problema de la cirugía de trasplantes, en el presente trabajo de investigación nos hemos propuesto estudiar experimentalmente un aspecto parcial de la inmunología de trasplante: El estudio morfológico y anatomopatológico de la reacción de homoinjerto cutáneo en cobayas y la influencia que sobre la misma puede obtenerse utilizando diferentes drogas. Entre estas hemos utilizado los inmunodepresores químicos mas cualificados en su grupo:

- a.- Entre los corticoides la 6-metil-prednisolona (Urbason).
- b.- Entre los antimetabolitos de las purinas la Azatioprina (Imurel).
- c.- Entre los antimetabolitos del ácido fólico la Ametopterina (Methotrexate).
- d.- Entre los agentes alquilantes, la Ciclofosfamida (Genoxal).

A estas drogas, típicamente inmunosupresoras, hemos unido el estudio experimental de la heparina como presunto inhibidor de la reacción de rechazo, basados en los trabajos originales de MYBURG y col. (1969) (205 bis) y de FRIES (1971) (92) y en las comunicaciones de MAURISASCO (1971) (171) y de LESKI (1971) (149), recogidas por TOURAINE (1971) (277), sobre trasplantes renales humanos.

Con anterioridad al estudio de la influencia de las - drogas mencionadas sobre la reacción de homoinjerto - cutáneo, realizando un estudio clínico y anatomopatológico en una serie de animales control, no sometidos a tratamiento alguno, para que nos sirviese de patron de comparación con las series en lasque los animales - fueron tratados.

Aún cuando no vienen referidos en este trabajo, el primer paso estuvo constituido por la práctica de autoinjertos de piel total en cobayas, con el fin de adiestrarnos en el manejo de este tipo de injertos y cerciorarnos de no cometer errores técnicos que pudiesen dificultar la interpretación de los resultados al comprometer el éxito de los mismos por motivos ajenos al mecanismo inmunológico del rechazo.

Todos los animales referidos en el presente trabajo, - han sido sometidos simultáneamente a un autoinjerto y homoinjerto cutáneo, lo que nos ha permitido estudiar el efecto de las drogas empleadas, no solo el homoinjerto y su rechazo, motivo fundamental de nuestras investigaciones, sino además su influencia sobre los autoinjertos, mediante biopsias periódicas de los mismos.

Al mismo tiempo hemos podido estudiar los efectos secundarios de las drogas empleadas, y de algunas de las consecuencias del empleo de los inmunodepresores químicos - sobre otros órganos.

Creemos justificado el tema elegido como objeto de Tesis Doctoral, por los siguientes motivos:

- 1.- La cirugía de trasplantes es una cirugía - de porvenir, a pesar de los inconvenientes apuntados.
- 2.- Está justificado su empleo siempre que ofrezca esperanzas de salvar la vida, restablecer la salud o aliviar el sufrimiento de los enfermos (Asociación Médica Mundial) (13).
- 3.- Creemos necesario proseguir la investigación en el campo de la Inmunidad de trasplante, - para conocerla mejor y poder aportar métodos verdaderamente efectivos.
- 4.- Dadas las limitaciones de nuestros medios, el trabajo realizado ha sido el que mas se ajustaba a nuestras posibilidades y disponibilidades.
- 5.- Existen pocos trabajos en nuestro país, referidos a la Inmunidad de trasplantes, aunque - existen algunos sobre trasplantes de órganos.
- 6.- El mecanismo íntimo del rechazo inmunológico está sin aclarar.
- 7.- El estudio simultáneo de la acción de las - drogas sobre autoinjertos y homoinjertos, - nos ha permitido obtener conclusiones secundarias, al margen del motivo central del estudio (reacción de homoinjerto cutáneo).
- 8.- Nos ha permitido adiestrarnos en el manejo de los inmunosupresores químicos.
- 9.- El estudio de homoinjertos cutáneos bajo la influencia de agentes inmunosupresores, constituye un procedimiento para evaluar la acción y efectividad de estas drogas.

Creemos que las razones apuntadas, constituyen motivo suficiente para justificar la elección del tema propuesto.

CAPITULO III

EVOLUCION HISTORICA DE LA INMUNOLOGIA Y SU CONCEPTO.-

En la actualidad la Inmunología ha adquirido un auge - extraordinario y una extensión tal, que los expertos de la Organización Mundial de la Salud recomiendan su inclusión en los modernos planes de estudio, como una asignatura independiente (259). La Inmunología ha invadido áreas vecinas de otras ciencias biológicas y se han creado "quimeras" científicas que se denominan con nombres híbridos: Inmunogenética, Inmunohematología, Inmunopatología, Inmunoterapéutica, Inmunquímica, etc.

Hasta hace relativamente poco tiempo, la Inmunología - estaba confinada al campo de la Microbiología y de las enfermedades infecciosas, pero en la actualidad, se - ha erigido en ciencia independiente, y gracias a su - proceso ha sido posible una auténtica revolución científica en la interpretación de numerosos fenómenos biológicos.

Desde el punto de vista histórico, la palabra "inmunis" se utilizaba entre el pueblo romano para designar a personas privilegiadas, que por su situación política o económica, estaban exentas de prestar servicio militar, pagar impuestos o cumplir con otros deberes cívicos. Con el advenimiento de la Iglesia Católica tales exenciones se extendieron a sus miembros mas destacados (inmunidad papal).

Por extensión, la palabra "inmunis" se aplicó para designar a aquellos individuos que a pesar de estar permanentemente en contacto con enfermos, no contraían la enfermedad.

Desde su introducción la palabra inmune encierra una idea de protección contra algo oneroso, molesto o nocivo y por tanto la calidad de inmune es una situación favorable, un estado que debe procurarse.

"Inmunis" se compone de dos raíces: "in": prefijo negativo y "munis": carga. Por tanto, etimológicamente, el término significa "privado de carga". El diccionario de la lengua castellana (42) define el adjetivo como: "libre exento de cierto oficios, cargas, gravámenes o penas", y en una segunda acepción como: "no atacable por ciertas enfermedades".

Inicialmente, el término "inmunidad" (calidad de inmune) desde el punto de vista médico, quedó restringido a su aspecto anti-infeccioso y las personas que se encontraban inmunizadas estaban en una situación privilegiada de protección frente a las enfermedades infecciosas. Como ocurre en muchas ocasiones, el conocimiento popular empírico se adelantó a las investigaciones científicas, y en China hace mas de 2.000 años, para conseguir un estado de Inmunidad, de protección, frente a la viruela, molían costras secas de pústulas variolosas y las inhalaban a modo de rapé.

Lady María WORTLEY MONTAGU, casada con el embajador inglés en Turquía, aprendió en este país la costumbre de la "variolización", (81), consistente en la inoculación de pus, obtenido de una pústula de enfermo, a un individuo sano, sobre todo en niños, en la creencia de que por este procedimiento la enfermedad era mucho menos grave y producía inmunidad permanente. Esta ilustre y culta dama, utilizó el procedimiento en su hijo menor, de tres años, el 18 de Marzo de 1717, sin consecuencias desagradables. Comunicó la noticia en una histórica carta a su país y de regreso en su patria, en 1721, hizo aplicar en otra hija suya de cinco años. La Corte Real inglesa se interesó por el llamado "método bizantino" para el tratamiento de la viruela, azote de la época, y una vez ensa

yado el procedimiento en seis condenados a muerte y en once niños aislados, sin que se produjeran efectos -- perjudiciales, la princesa de Gales (posteriormente -- esposa de Jorge II) variolizó a sus dos hijas. Tras -- este hecho, el procedimiento se difundió por el país -- y se extendió a Europa, sobre todo por Francia, donde -- fué defendido por VOLTAIRE, y por Alemania, defendido -- por von HALLER.

En el condado de GLUOCESTER, las vacas sufrían una -- enfermedad bastante parecida a la viruela humana, lla-- mada viruela de la vaca. Esta viruela contagiaba fre-- cuentemente a los ordeñadores, y los campesinos habían observado que los que habían sufrido viruela vacuna en las manos, una vez curada ésta, no se contagiaban en -- las grandes epidemias humanas de la época. En 1774, -- Benjamín JETSEY, un campesino observador, inoculó a su mujer y a cuatro hijos con material procedente de una vaca enferma de viruela con fines profilácticos.

JENNER, desconociendo la actuación de JETSEY, comenzó -- a observar detenidamente, desde 1775, la afirmación po-- pular de que los que habían padecido la viruela vacuna, no sufrían la viruela humana.

El 14 de Mayo de 1796, tras pacientes observaciones, -- JENNER (81), inoculó linfa de una pápula de viruela -- de la mano derecha de la ordeñadora SARAH NEMES a un niño de ocho años sano, llamado JAMES PHIPPS, extendien-- do sobre dos rasguños practicados en su antebrazo, el -- material procedente de la granjera. El 1 de Julio del -- mismo año, inoculó viruela al mismo niño, y la viruela no se le contagió: el niño había quedado inmunizado con-- tra la viruela.

JENNER envió el manuscrito de esta primera experiencia a la Royal Society en Londres, y le fué devuelto por -- constituir una "mancha" en su reputación, y no estar -- este trabajo a la altura de otras que años antes había -- realizado sobre diversas especies de pájaros, especialmente sobre el cuclillo.

Con el descubrimiento de la "vacuna antivariólica", JENNER sienta las bases científicas de la Immunología y posteriormente, a finales del siglo pasado, con el descubrimiento de los microorganismos patógenos por PASTEUR y -- KOCH, el progreso en el aspecto anti-infeccioso de la -- Inmunidad, adquiere un enorme desarrollo.

En 1888, RICHET y HERICOURT, descubren que el suero de enfermos ~~que~~ habían sufrido una infección por estafilococos tiene una cierta acción defensiva contra infecciones por el mismo germen.

En 1889, CHARRIN y ROGER, descubren la aglutinación de bacilos piocianicos por suero de animales infectados -- con este germen.

BEHRING y KITASATO en 1890, descubren el poder antitoxico del suero de animales que habían recibido dosis -- subletales de toxina diftérica y tetánica.

Con estos descubrimientos se establece el concepto clásico de Inmunidad, como un estado de resistencia individual específica frente a una infección determinada y se pensó que el mecanismo de protección estaba representado por la presencia en el suero de unas sustancias -- solubles, a las que se denominó anticuerpos, las cuales constituirían la base biológica de la resistencia.

Basados en estas observaciones iniciales se establecen los diferentes tipos de inmunidad que se reproducen - en los textos de Microbiología (304) hasta épocas recientes. Por ejemplo, en el libro de TOPLEY y WILSON - (276), de 1942, se clasifica la Inmunidad en:

1.- Inmunidad natural o genética.

2.- Inmunidad adquirida:

a.- Activa { Adquirida espontánea
mente.
Provocada artificial
mente.

b.- Pasiva { Adquirida espontanea
mente (congénita)
Provocada artificial
mente.

En el caso de la Inmunidad adquirida activamente el estado de resistencia tarda cierto tiempo en establecerse, pero es duradero, mientras que en el caso de la Inmunidad adquirida pasivamente, su instauración es rápida pero su duración en el tiempo es escasa.

Algunos autores (ZAPATERO) (304), distinguen entre "inmunidad" y "no susceptibilidad". En el primer caso existe un estado de refractariedad frente a una infección determinada que ha sido adquirida activa o pasivamente. La "no susceptibilidad" se caracteriza por la ausencia de manifestaciones en individuos de una especie determinada ante la agresión de gérmenes patógenos para individuos de otras especies, sin que en los primeros existan defensas específicas (anticuerpos).

Según algunos autores (ZAPATERO, 1951) (304) la llamada Inmunidad natural no existe; existe una inmunidad - del recién nacido que es una forma de inmunidad adquirida pasivamente, por paso al feto de productos elaborados por la madre y que por su condición de pasiva de saparece poco tiempo después del nacimiento. Sin embar go otros autores (FASQUELLE et al., 1968) (83) defienden la existencia de la inmunidad natural, basándose - en experiencias animales: Ratones infectados con Salmo nella typhimurium mueren en una proporción del 80%. Si los descendientes de los supervivientes son infectados, progresivamente va disminuyendo la mortalidad y al lle gar a la sexta generación la tasa de mortalidad es del 20%. Experiencias realizadas con otros gérmenes y otros animales conducen al mismo resultado. Por tanto, es -- una realidad la existencia de la inmunidad natural, cuya génesis (anticuerpos naturales, mutaciones, selección natural del huesped, etc.) es muy compleja.

Existe un estado que SERGENT (249) llama "premunición" que consiste en la resistencia de un organismo, en - estado de infección latente, contra una sobreinfección por el mismo germenque, quizás en ocasiones, sea inter pretado como un estado de inmunidad natural. Cuando de saparece el estado de infección latentes, la reinfección se hace posible.

Así pues, el término inmunidad ha estado confinado durante muchos años a la Bacteriología, a pesar de las observaciones de finales de siglo que nada tienen que - ver con aquella ciencia, si bien fueron hechas en su - mayor parte por bacteriólogos.

En 1894 CAMETTE descubre la existencia de anticuerpos - en el suero de animales tratados con veneno de serpientes.

En 1898, BORDET observa anticuerpos hemolíticos en el suero de animales inyectados con sangre de animales de otras especies. Es el comienzo de la Inmunohematología.

TSCHISTOVITCH en 1899, descubre que el suero de un animal inyectado a otro animal, determina la aparición de anticuerpos en el suero de este que precipitan "in vitro" el suero del primero.

Gracias a estos descubrimientos se llega a la conclusión de que los anticuerpos aparecen no solo por la acción de los gérmenes o sus productos, sino también por la administración de veneno de serpientes, de glóbulos rojos e incluso de suero sanguíneo. DETRE DEUTSCH, designó a todos estos productos capaces de originar la aparición de anticuerpos con el nombre, poco correcto etimológicamente (yo engendro el anti) pero universalmente aceptado y empleado desde entonces, de antígenos.

La Inmunología pasó a ser el estudio de los antígenos y de los anticuerpos, pero aún conservaba un carácter de protección, de defensa contra agresiones extrañas.

Sin embargo cuando un antígeno llega a un organismo y da lugar a una reacción o respuesta inmunitaria, con formación de anticuerpos, las consecuencias que de ella se derivan no siempre tienen un carácter de protección para el organismo, sino que pueden tener un efecto desfavorable sobre el mismo.

En 1901, RICHET y PORTIER, en un crucero a las islas -- Cabo Verde, invitados por Alberto I de Mónaco en su yate, observaron que el contacto cutáneo con las "ortigas de mar" (Physalias) daba lugar a la aparición de una -- erupción con enrojecimiento, calor local, picor y a veces alteración del estado general. Obtuvieron un extracto glicerinado de las ortigas y se lo inyectaron a di-

versos animales (ranas, cobayas, patos, palomas) observando que les inducía un estado precomatoso o comatoso. Al principio activo de las ortigas de mar le bautizaron con el nombre de "hipnotoxina".

De regreso a París, prosiguieron sus investigaciones con extractos de tentáculos de actinias y de almejas que inyectaron a perros, los cuales soportaban bien la primera inyección, pero al repetir la segunda inyección tres semanas mas tarde, se producía inmediatamente despues un cuadro rápidamente mortal con vómitos, diarrea sanguinolenta, disnea, hipotensión, coma y muerte. El fenómeno fue designado con el nombre de anafilaxia y el antígeno con el de actinocongestina.

En 1903, ARTHUS describe el fenómeno que lleva su nombre: la inyección subcutánea al conejo de suero de caballo no tiene ningún efecto; pero si pasado un cierto tiempo se repite la inyección, en el lugar de la segunda aparece rápidamente un fenómeno inflamatorio agudo que puede llevar a la necrosis tisular con formación de una escara.

En 1891 KOCH observó que si se inoculaban bacilos tuberculosos por vía subcutánea a cobayas sanos, a los 10-15 dias se presentaban los síntomas locales de la tuberculosis experimental (nódulo en el lugar de la inyección que llega a ulcerarse, transformándose en una úlcera denominada chancro de inoculación que persiste hasta la muerte del animal) y la difusión linfática y visceral. Si la inoculación se hace a los 40 dias de la primoinoculación en cobayas anteriormente infectados, a los dos o tres dias en el lugar de la misma, no se forma un nódulo sino una zona infiltrativo-equimótica, de color violáceo que acaba transformandose en una escara negruzca que se desprende y origina una úlcera superficial que cura en 15 dias, sin que se acompañe de adenopatías; los bacilos de sobreinfección no se diseminan: son destruidos in situ o eliminados con la caída de la escara. Este

hecho, en honor a su descubridor, se conoce con el nombre de fenómeno de KOCH.

VON PIRQUET, en 1906, introduce el término de alergia - (del griego allos: otro o diferente y ergon: acción, -- trabajo, reacción), que etimológicamente significa reac ción diferente, con lo que se quiere expresar que ante un antígeno el organismo reacciona de forma diferente a como lo hace habitualmente en el terreno de la inmunidad (en el sentir de los microbiólogos). Los fenómenos alérgicos no solo se producen con la inoculación de gérmenes vivos o muertos, sino también inoculando productos derivados de los gérmenes (reacción a la tuberculina), ingestión de determinados alimentos (leche, huevos, fresas, ma riscos, etc.) administración de medicamentos, inhalación de polvos (polen, polvo común, etc.) o contacto con determinados productos.

En 1924, SANARELLI comunica el fenómeno que lleva su nombre. Si se inocula vibrión colérico al conejo par vía intravenosa a dosis subletal, y a las 24-48 horas se le inyecta por la misma vía un filtrado de un cultivo en caldo de colibacilos, en un periodo de tiempo breve -- (de 0,5 a 2 horas) se produce un cuadro rápidamente mortal: Grito, hipotermia, convulsiones, disnea y muerte. La inyección de vibriones y del filtrado de cultivo de colibacilos por separado, no produce este efecto. En la autopsia de los animales se encuentra una congestión -- hemorrágica en todas las vísceras, sobre todo abdominales, con exudado peritoneal también hemorrágico.

SCHWARTZMAN, desde 1928 a 1937, observó en conejos que habían recibido por vía intradérmica una inyección de -- un filtrado de un cultivo microbiano (colibacilos, baci los tíficos, meningococos, neumococos, etc.), que por -- si mismos no provocan una reacción local visible, que -- la inyección por vía intravenosa, a las 24 horas de la inyección intradérmica, de un filtrado de un cultivo di ferente al primero, determina en un periodo breve de -- tiempo (unas tres horas aproximadamente) la aparición en el lugar de inoculación de la primera inyección de -- un infiltrado hemorrágico seguido de necrosis.

El fenómeno de SANARELLI y el fenómeno de SCHWARTZMAN, constituyen ejemplos de reacciones alérgicas "no específicas", también conocidos como reacciones alérgicas - hemorrágicas.

En otro orden de cosas, frente a los defensores de las teorías humoralistas de la inmunidad, al descubrir METCHNIKOFF a finales del siglo pasado la fagocitosis, — surgen los defensores de las teorías celulares de la — inmunidad, originandose una gran controversia sobre las bases fisiológicas de la misma, lo que en parte sirvió para aclarar parcialmente el problema ya que se llegó — a la conclusión de que ambos fenómenos, celulares y humorales, participan en las reacciones inmunitarias.

Los hechos anteriormente apuntados indican que la reacción inmunitaria no siempre tiene un carácter defensivo, sino que en ocasiones resulta patógena para el organismo y da lugar a fenómenos de hipersensibilidad, de — manifestación retardada, como ocurre en la reacción tuberculínea, en el caso de drogas que causan hipersensibilidad, en la mayor parte de las enfermedades por autoagresión, en la reacción de homoinjerto, etc.

Así pues, la respuesta inmunitaria clásica, desencadenada por la introducción de un antígeno en el organismo, puede resultar favorable para el mismo constituyendo un mecanismo de defensa (sería la inmunidad en el — sentido clásico), o bien por el contrario, puede resultar desfavorable y transformarse en un mecanismo, — aparentemente, de agresión (fenómenos de hipersensibilidad). La respuesta inmune tiene, pues, un carácter — ambivalente.

La reacción inmunitaria, como capacidad de respuesta — de los seres vivos frente a un estímulo antigénico, se identifica desde el punto de vista filogenético en la lamprea, y a medida que se asciende en la escala animal cada vez se hace mas compleja. Aún cuando no requiere la participación del sistema nervioso, como —

Como sucede con otras formas de reacción orgánica ante estímulos nocivos (contracción, huida, etc.), tiene con el unas semejanzas importantes (219):

- 1.- Distribución por todo el organismo.
- 2.- Percepción de distintos estímulos.
- 3.- Respuestas mas o menos estereotipadas.
- 4.- Poder de discriminación entre estímulos diferentes.
- 5.- Especificidad de ambos sistemas.
- 6.- Organización funcional semejante: Receptores, vias aferentes, centros de elaboración de los estímulos, vias eferentes y efectores.
- 7.- Ambos sistemas presentan una memoria, es decir, una capacidad de adquirir y conservar información.

En definitiva, la reacción inmunitaria es un mecanismo de reacción sistémica frente a elementos extraños al organismo. Localmente, cuando un elemento extraño llega a un organismo, tiene lugar un proceso inflamatorio inespecífico, localizado en el seno del tejido conjuntivo, pero si tal elemento extraño tiene capacidad antigénica, se origina una respuesta inmunitaria que es sistémica, es específica y está centralizada en el tejido linfóide.

Dada la heterogeneidad de los constituyentes del organismo es necesario establecer el concepto de personalidad biológica, es decir, la existencia de una integridad individual que asegura la diversidad de la especie, cuya misión fundamental es distinguir entre lo propio y lo ajeno. Cada individuo tiene una serie de constituyentes que le son propios y que le hacen distinto de otro individuo de la misma especie; es decir cada individuo tiene su propia personalidad biológica. Para conservar su personalidad, ese sello le distingue de un semejante de la misma especie, el organismo rechaza la integración de cualquier material que no le sea idéntico. Esto puede explicarnos la inmunidad en el sentido clásico, los fenómenos de hipersensibilidad, los

rechazos de órganos trasplantados, etc. Pero, como explicar los fenómenos de autoagresión en los que el individuo reconoce como extraños sus propios componentes ?.

Para interpretar las lesiones por autoagresión pueden esgrimirse varias respuestas (241):

- 1.- Liberación de constituyentes tisulares que normalmente no están en contacto con el aparato inmunocompetente, encargado de elaborar la respuesta inmunitaria.
- 2.- Transformación de componentes propios, bajo la influencia de estímulos patológicos, en sustancias distintas de las habituales que resultan desconocidas para el organismo.
- 3.- Exposición a un antígeno extraño lo suficientemente parecido a los componentes normales ("propios"), como para dar origen a una reacción inmunitaria que al mismo tiempo que tiende a eliminar el antígeno extraño, produce alteración sobre los componentes propios (reacción cruzada)?
- 4.- Alteración adquirida del aparato inmunocompetente.
- 5.- Aparición de una o varias clones de células inmunocompetentes que, de manera anormal, reaccionan contra componentes normales del organismo.
- 6.- Según BURNET, el número de mitosis que se producen en el organismo es muy elevado y la posibilidad de error en la replicación de un locus genético determinado es del orden mínimo de 10^{-5} por replicación. Esto puede originar una enorme cantidad de mutaciones, las cuales pueden dar lugar a células viables o inviables. Aquellas pueden resultar peligrosas, pues se comportan como extrañas y son eliminadas por el sistema inmunocompetente. Esta suposición no ha

sido confirmada experimentalmente.

En esencia, la entraña de la personalidad biológica asienta en el sistema linfoplasmocitario, al que le está encomendado un papel primordial en el mantenimiento de la integridad biológica del individuo: La defensa de su personalidad. En este sentido, la inmunidad conserva su caracter defensivo, su caracter de protección clásico. Considerada la acción de la reacción inmunitaria sobre el individuo aislado, en muchas ocasiones tiene un caracter novivo.

PANORAMA INMUNOLOGICO GENERAL

La respuesta inmunologica es un mecanismo de reacción ante determinados estímulos, presente en los animales vertebrados, cuya finalidad es asegurar la individualidad del organismo en que tiene lugar. Mediante este mecanismo, el organismo mantiene su personalidad biológica aún cuando, en ocasiones, la respuesta inmunológica resulte nociva para el individuo en que se desarrolla.

El estímulo capaz de desarrollar una respuesta inmunológica se denomina estímulo antigénico y las sustancias que materializan el estímulo antigénico se denominan - antígenos. Cuando un antígeno llega a un organismo pueden ocurrir las siguientes eventualidades:

- 1.- El organismo desconoce el antígeno: No le reconoce como propio ("self"), sino que le identifica como ajeno ("non-self") y responde mediante una reacción tendente a eliminar o destruir el antígeno, en virtud de uno o ambos de los siguientes mecanismos:
 - a.- Formación de anticuerpos o inmunoglobulinas capaces de unirse específicamente al antígeno.
 - b.- Aparición de una población celular - específicamente sensibilizada a dicho antígeno.
- 2.- El organismo reconoce el antígeno como propio y permite la permanencia del mismo en su interior, sin formar anticuerpos o desarrollar una población de células sensibilizadas.

A la primera eventualidad es a la que propiamente se denomina respuesta inmunológica. La segunda es conocida como tolerancia inmunológica.

La respuesta inmunológica se desarrolla a través de dos mecanismos fundamentales:

- A.- Síntesis de anticuerpos: Constituye la denominada inmunidad humoral.
- B.- Producción de células sensibilizadas: Es la base de la denominada inmunidad celular, peor conocida que la anterior.

Ambos mecanismos no son mutuamente exclusivos, sino que con frecuencia se desarrollan simultáneamente. Tanto uno como otro se caracterizan por su especificidad frente al antígeno que les hizo desarrollarse, o frente a antígenos química y estructuralmente similares (reacciones cruzadas). Cuando el mecanismo inmunológico, en lugar de tener un efecto beneficioso para el organismo sobre el que se desarrolla, tiene unas consecuencias nocivas para el mismo, en el sentido de producir daño tisular, se denomina hipersensibilidad, que según esté mediada por anticuerpos o células sensibilizadas, se apellida humoral o inmediata y celular o retardada respectivamente, cuyas diferencias pueden sintetizarse según el cuadro número 1 (TURK) (1967) (282).

Así pues, la respuesta inmunológica se puede clasificar de la siguiente manera:

RESPUESTA
INMUNOLOGICA

Reacción de inmu-
nidad (Beneficiosa)

Mediada por células
sensibilizadas o
Inmunidad celular.

Mediada por anticuer-
pos o Inmunidad humoral.

Reacción de hiper-
sensibilidad.
(Nociva)

Mediada por células
sensibilizadas: Hiper-
sensibilidad celular
retardada o diferida.

Mediada por anticuer-
pos: Hipersensibilidad
humoral o inmediata.

CUADRO Nº 1 (Imitado de TURK) (282)

DIFERENCIAS ENTRE HIPERSENSIBILIDAD TARDIA E INMEDIATA		
	HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA	HIPERSENSIBILIDAD INMEDIATA
TIEMPO DE APARICION DE LA RESPUESTA MAXIMA	24- 48 horas	4-8 horas
CARACTERISTICAS MACROSCOPICAS	Eritema Induración	Edema Hemorragia
CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS	Infiltrado de células mononucleares	Infiltrado de células granulocíticas.
SENSIBILIZACION PASIVA	Células linfoides	Suero
REACCION GENERAL	Fiebre	Anafilaxia

Según COOMBS (1968) (53), (1970) (54), la "reacción de inmunidad" o "reacción inmune" tiende a proteger de enfermedad, mientras que la "reacción de hipersensibilidad" es causante de enfermedad. Este autor — clasifica las reacciones de hipersensibilidad en cuatro tipos:

- Reacción de tipo I o anafiláctica, provocada por los antígenos que actúan específicamente sobre ciertas células (básófilos, mastocitos o células cebadas), pasivamente sensibilizadas por los anticuerpos que se han adherido a su superficie y que se denominan anticuerpos anafilácticos. De la interacción antígeno-anticuerpo, se produce una alteración de la célula portadora del anticuerpo, con liberación de sustancias farmacológicamente activas (PARDOE y UHLENBRUCK, 1970) (217), — que son las responsables de las alteraciones tisulares.

- Reacción de tipo II o citotóxica, en la que los anticuerpos reaccionan con un componente antigénico de la membrana celular o con un antígeno o hapteno que está adosado a esta membrana. Habitualmente, aunque no siempre, es necesaria la presencia del complemento para que la interacción antígeno-anticuerpo determine daño celular o tisular. Como ejemplos de este tipo de reacción pueden citarse: los accidentes transfusionales, la enfermedad hemolítica del recién nacido, las glomerulonefritis por auto-anticuerpos, etc.

- Reacción de tipo III o tipo ARTHUS, en la que de la interacción antígeno-anticuerpo se forman complejos que, en forma de micro-precipitados o de complejos solubles se depositan seguidamente, o tras la interacción del complemento, en las paredes, en el interior y alrededor de los vasos sanguíneos pequeños, lesionando las células y los tejidos. Como ejemplo de esta reacción, pueden citarse, el fenómeno de ARTHUS, la enfermedad del suero, vasculitis alérgica, etc.

-Reacción de tipo IV, en la cual las células sensibilizadas activamente infiltran el tejido donde se halla acantonado el antígeno. Son típicas de los fenómenos de hipersensibilidad diferida o retardada (reacción tuberculínica, infecciones víricas, infecciones por hongos, hipersensibilidad de contacto a sustancias químicamente simples, tales como el dinitroclorobenceno, rechazo de homoinjertos, enfermedades auto-inmunes).

Estos tipos de reacción pueden desarrollarse aislada o conjuntamente

La respuesta inmunológica obtenida tras una primera estimulación antigénica, se denomina respuesta primaria. Una segunda exposición al mismo antígeno que determina la respuesta primaria, origina una respuesta mucho mas rápida y mas intensa en su expresión fenomenológica, que se denomina respuesta secundaria o -anamnética.

Después de la respuesta primaria, el individuo queda en un estado de reactividad modificada frente al mismo antígeno que determinó la respuesta, que se denomina memoria inmunológica. Este estado de reactividad inmunológica modificada puede transmitirse de un animal sensibilizado a un receptor no estimulado antígenicamente, mediante la administración de anticuerpos procedentes de un animal sensibilizado, en el caso de la inmunidad humoral (transferencia pasiva), o bien mediante la inyección de células efectoras de la inmunidad - (células linfoides vivas) procedentes de un donante inmunizado, en el caso de la inmunidad celular (transferencia activa o inmunidad adoptiva).

RESPUESTA INMUNE HUMORAL..-

Se caracteriza por la aparición de anticuerpos en el suero. Tales anticuerpos son específicos contra el antígeno que ha dado lugar a su formación o contra otros antígenos, química y estructuralmente muy similares al primero (reacciones cruzadas).

Tras un primer estímulo antigénico, existe un periodo de tiempo, mas o menos largo, según factores muy variados (naturaleza del antígeno, via de administración animal utilizado, etc.), durante el cual no se detectan anticuerpos específicos en el suero. Este periodo de tiempo inicial se denomina intervalo libre o fase de inducción y representa el tiempo necesario para que el antígeno se ponga en contacto con el aparato inmunocompetente y este fabrique anticuerpos en cantidad suficiente como para ser detectados por los medios de que se dispone en la actualidad. En líneas generales, la fase de inducción dura aproximadamente dos días y desde este momento hasta el sexto u octavo día, se detecta un aumento rápido y progresivo, en una curva logarítmica, del título de anticuerpos. Alcanzada la máxima concentración, se inicia un descenso gradual y mas lento hasta llegar aproximadamente a una concentración que representa la décima parte de la máxima obtenida y que se mantiene durante un tiempo mas o menos largo. Así pues, tras la fase de inducción o intervalo libre, se suceden en el tiempo una fase de crecimiento logarítmico, fase de disminución y fase estacionaria en la concentración de anticuerpos, como exponentes de la respuesta primaria ante un estímulo antigénico específico de terminado.

Si se efectúa una segunda estimulación antigénica con el mismo antígeno que determinó la respuesta primaria, se obtiene una modalidad de reacción inmunológica que se denomina respuesta secundaria o anamnésica. En este tipo de respuesta, tras la administración del anti-

geno específico, tiene lugar un descenso vertical - del título de anticuerpos preexistentes como consecuencia de la respuesta primaria, debido a la combinación del antígeno con el anticuerpo. Este descenso en el título de anticuerpos, se denomina fase negativa de la respuesta secundaria. Tras una fase de inducción o intervalo libre, mas corta que en la respuesta primaria, en la que se detectan anticuerpos circulantes, tiene lugar una fase de crecimiento en la concentración de anticuerpos que sufre un ascenso casi vertical a niveles muy superiores a aquellos obtenidos durante la respuesta primaria. -- Tras una corta fase de descenso en la concentración de anticuerpos, estos alcanzan un título que se mantiene mucho mas alto que en la respuesta primaria, -- durante la fase estacionaria. Lo mismo que sucede en la respuesta primaria, la respuesta anamnésica es -- específica para un antígeno determinado.

Si se realizan estimulaciones antigénicas sucesivas sobre un individuo, empleando siempre el mismo antígeno, se obtienen respuestas secundarias tambien sucesivas, que cada vez son de menos magnitud, hasta -- que llega un momento en que el título de anticuerpos séricos no se modifica, a pesar de que sigan actuando nuevos estímulos antigénicos específicos. En estas circunstancias se dice que se ha alcanzado un estado de hiperinmunización.

RESPUESTA INMUNE CELULAR.-

Se conoce peor que la respuesta inmune humoral. En este tipo de respuesta la eliminación de material antigénico está encomendada a determinadas células y no a los anticuerpos circulantes. Se caracteriza por la presencia de células inmunocompetentes -- cuyo comportamiento frente a un antígeno se modifica específicamente por exposición previa al mismo antígeno, y cuya finalidad es la eliminación de dicho antígeno.

geno por mecanismos peor conocidos que los de la respuesta humoral, que trataremos de analizar al estudiar la inmunidad celular.

Así como la inmunidad humoral es susceptible de transferirse pasivamente a un animal no sensibilizado mediante la administración de suero procedente de un donante sensibilizado, la inmunidad celular no puede transferirse pasivamente por suero de donante sensibilizado, sino solamente mediante la administración de células linfoides vivas o de fragmentos subcelulares (inmunidad adoptiva o transferencia activa).

Los mecanismos responsables de la inmunidad celular y humoral están encomendados al aparato inmunocompetente, constituido por una serie de células genéticas y morfológicamente diferentes. En la respuesta inmunológica intervienen diferentes tipos celulares: macrófagos, linfocitos, células plasmáticas, células primitivas de la médula ósea ("stem cells"), cuya actividad y funciones están regidas por los denominados órganos linfoides centrales, representados por el timo y la bolsa de Fabricio en las aves o su equivalente en los mamíferos (Mc KNEALLY y GOOD) (1971) (174) (175).

Las células inmunocompetentes proceden de una célula primitiva medular ("stem-cells"), que ulteriormente se separa en dos poblaciones celulares:

- a.- Una se diferencia en linfocitos, bien en contacto con las células tímicas o bien bajo la influencia del timo. Son los denominados linfocitos "timo-dependientes" o linfocitos T (REVILLARD y BROCHIER, 1971) (235), que constituyen la mayor parte de los linfocitos de vida larga, de tamaño pequeño y recirculantes (ELVES, 1968) (78). Estos linfocitos se sitúan en las áreas paracorticales de los ganglios linfáticos y en

las vainas linfoides periarteriolares del bazo, -- que constituyen las áreas rimo-dependientes de los órganos linfoides secundarios (MILLER, 1971) (190). En el ratón los linfocitos T se identifican fácilmente, ya que en su superficie presentan un antígeno theta () y un antígeno Ly (BACH, 1971) (8), que no presentan los demás linfocitos y que constituye -- la marca de su paso por el timo (REVILLARD Y BROCHIER 1971) (225). Por otra parte los linfocitos T, no se encuentran en el ratón recién nacido timectomizado, -- ni tampoco en los conejos Nu, que no tienen timo. A -- estas células les está encomendada fundamentalmente la inmunidad celular.

- b.- Otras células medulares primitivas se -- desarrollan bajo la influencia de la -- bolsa de Fabricio en las aves o de al-- gún otro órgano equivalente en otros -- vertebrados, y posteriormente se localiza en las áreas timo-independientes o -- bursa-dependientes de los órganos linfoides secundarios o periféricos: folículos linfoides, área cortical superficial de los ganglios linfáticos y bazo. Estos -- linfocitos denominados B (REVILLARD y -- BROCHIER, 1971) (235), son de vida mas -- corta y son los responsables de la formación de una población celular encargada de la producción de anticuerpos humorales.

Así pues, la célula medular primitiva, coloniza los -- órganos linfoides centrales o primarios, donde bajo -- la influencia de circunstancias ambientales locales, -- (MOORE y OWEN, 1967) (200) sufren una diferenciación: Las células que se diferencian en el timo se van a -- encargar de la inmunidad celular, mientras que las -- diferenciadas en la bolsa de Fabricio de las aves o su equivalente en otros vertebrados, serán las responsables de la inmunidad humoral. Produciendo los linfocitos en los órganos linfoides centrales, abandonan estos

órganos y se localizan en los órganos linfoides — periféricos, en zonas bien determinadas, según se trate de una u otra estirpe celular.

Ambos tipos celulares son activados por los antígenos por lo que se denominan células antigenosensibles o inmunocompetentes.

Cuando el estímulo antigénico llega a un linfocito-timo-dependiente, bien de forma directa o a través de las denominadas células accesorias de la reacción inmunológica (MILLER, 1971) (190), tales como los macrófagos, células fijas del S.R.E. (sobre todo células del retículo dendrítico de los folículos linfoides) y algunas células sanguíneas (monocitos, eosinófilos, neutrófilos), tiene lugar una transformación blástica del linfocito (grandes células pironinófilas), que se divide activamente y origina un linfocito "sensibilizado", encargado de las reacciones inmunológicas de mediación celular. Los linfocitos — bursa-dependientes en presencia del antígeno originan células blásticas primitivas que se dividen y — diferencian en células plasmáticas, encargadas de la producción de anticuerpos. Cuando cesa la estimulación antigénica, las células derivadas de un linfocito B estimulado por el antígeno, se transforman en células de memoria (memory cells), que pueden dar lugar a células plasmáticas productoras de anticuerpos, en presencia del antígeno específico. La producción de células plasmáticas tiene lugar en la médula de los ganglios linfáticos y en la pulpa roja del bazo, fundamentalmente.

En líneas generales, la respuesta inmunológica puede modificarse cuantitativamente mediante el empleo de agentes físicos, químicos y biológicos. Los agentes potenciadores de la reacción inmunológica se denominan genéricamente adyuvantes, y como ejemplo de los mismos pueden citarse las sales de aluminio, endotoxinas bacterianas, fitohemaglutinina (complejo protéico obtenido del *Phaseolus vulgaris*), adyuvante de FREUND incompleto (emulsión de agua y aceite) o

completo (el incompleto mas micobacterias), etc. Los agentes depresores de la reacción inmunológica se de nominan inmunosupresores, o inmunodepresores y su empleo está muy difundido en la lucha contra el rechazo de órganos trasplantados, constituyendo en la actualidad motivo de investigación a escala mundial.

00000000 7

INMUNIDAD HUMORAL.- Se caracteriza por la presencia de anticuerpos específicos en el suero.

I.- ANTIGENOS.- Antes se definían como sustancias que introducidas en el organismo, determinan la formación de anticuerpos, (304), con los que reaccionan específicamente. Inicialmente se creía que se -- trataba de macromoléculas de origen biológico, casi siempre de naturaleza proteica, pero después se ha visto y demostrado que polisacáridos, lipoproteínas, sustancias de peso molecular reducido, etc. pueden comportarse como antígenos. Por otra parte en la respuesta inmunológica de mediación celular, no existen anticuerpos humorales y se denomina antígeno a la -- sustancia que determina este tipo de respuesta.

En la actualidad se pueden definir los antígenos como sustancias capaces de estimular la producción de anticuerpos, o al menos combinarse específicamente con ellos (haptenos), o de inducir fenómenos de inmunidad celular o de hipersensibilidad celular, sin tener en cuenta su origen biológico, su estructura química, ni su peso molecular.

En el caso de la inmunidad humoral, los antígenos, -- según se comporten frente al anticuerpo, se clasifican en:

- 1.- Antígenos completos: Son aquellos capaces de determinar la formación de anticuerpos y combinarse específicamente con ellos.
- 2.- Antígenos incompletos o parciales, mas conocidos con el nombre de haptenos: No son capaces de inducir la formación de anticuerpos, --

pero se combinan específicamente con ellos.

Los antígenos se caracterizan, genéricamente considerados, por dos propiedades fundamentales:

- a.- Antigenicidad o capacidad de inducir una respuesta inmunológica, bien sea humoral o celular, ambas, y
- b.- Especificidad de reacción con el anticuerpo o con la célula sensibilizada.

La especificidad depende, no de toda la molécula del antígeno, sino de una zona muy concreta de la misma - denominada área de combinación específica o determinante antigénico (KABAT, 1966) (139), o más concretamente de la disposición espacial del determinante antigénico, que se encaja en el área de combinación--- ("combining site") 8225) o "sito activo" del anticuerpo, por fuerzas intermoleculares débiles.

El número de determinantes antigénicos que presenta - un antígeno, constituye la valencia del mismo, si bien en algunas ocasiones algunos de los determinantes no - es accesible a la combinación con el anticuerpo por su disposición oculta dentro de la molécula de antígeno o bien por estar tan próximos entre si que alguna de --- las áreas de combinación del antígeno no puede unirse a la correspondiente del anticuerpo, por no haber todos los anticuerpos necesarios para satisfacer todos los determinantes antigénicos. En definitiva la valencia real del antígeno no depende solo del número de -- determinantes sino de la exposición espacial de los -- mismos, ya que la unión antígeno-anticuerpo es este--- reoespecífica.

En líneas generales, los antígenos naturales son de peso molecular elevado, de estructura química muy compleja y con determinantes antigénicos característicos del individuo al que pertenecen, de tal suerte que inyectados a otro animal de la misma o diferente especie, se comportan como extraños y originan una reacción inmunológica que trata de eliminarlos. Por otra parte existe una especie de competencia antigénica, en virtud de la cual cuando se administran dos o mas antígenos a un mismo individuo, puede observarse alguna deficiencia en la respuesta inmunológica contra alguno de ellos.

Cuando el antígeno se inyecta por vía intravenosa, — se produce un estímulo del tejido linfático del bazo, médula ósea, pulmones e hígado y es a este nivel donde se produce la mayor parte de los anticuerpos. — Cuando la inyección del antígeno se realiza por vía intramuscular, subcutánea, intradérmica o intraperitoneal, el papel preponderante en la producción de anticuerpos específicos corresponde a los ganglios linfáticos regionales y a la médula ósea. (ELVES, 1968) (78).

Si se trata de antígenos particulados (bacterias, — virus, eritrocitos, agregados moleculares) inyectados por vía intravenosa se acumula sobre todo en las células del S.R.E. del bazo e hígado. Los antígenos solubles administrados por vía intravenosa presentan una amplia difusión por las células del S.R.E., donde predominan. Los antígenos inyectados en el seno de los tejidos sufren una fagocitosis local por macrófagos o bien por vía linfática alcanzan el ganglio regional donde son captados por los macrófagos, y — una pequeña parte del antígeno que escapa a la acción de los macrófagos puede pasar a la circulación general.

La penetración intracelular del antígeno o endocitosis se hace por:

- 1.- **Fagocitosis:** Captación de sustancias particuladas, de células y de fragmentos subcelulares; la vacuola fagocítica puede sufrir varias evoluciones: abrirse de nuevo al exterior; permanecer en el interior de la célula durante un tiempo indefinido; o bien desaparecer por acción enzimática de los lisosomas.
- 2.- **Pinocitosis:** Formación de vacuolas líquidas en el interior del citoplasma que se inicia en la membrana celular y se mueve hacia la profundidad de la célula. Estas vacuolas líquidas tienden a concentrarse cerca del aparato de GOLGI, donde súbitamente, pierden sus límites y son incorporadas a las sustancias intracelular. Es la forma de ingestión celular de líquidos, solutos y partículas submicroscópicas.
- 3.- **Micropinocitosis:** Absorción de sustancias solubles.

Entre los diferentes tipos celulares pertenecientes al S.R.E. que captan el antígeno, la mayor parte de los mismos lo único que hacen es degradarlo pero los macrófagos juegan un papel esencial en los fenómenos inmunológicos. Está demostrado que las moléculas captadas por macrófagos son mas inmunógenas que las que permanecen en la circulación (REVILLARD — 1970) (229) y la síntesis de anticuerpos bajo la forma de respuesta primaria no puede realizarse in vitro mas que en presencia de estas células.

La localización del antígeno en el ganglio linfático regional, se hace en sus dos zonas, medular y cortical, algunos minutos después de la inyección. En los macrófagos de los senos medulares el antígeno se localiza en las vesículas lisosómicas y el papel de estos macrófagos medulares en la inmunización no es bien conocido. En la zona cortical del ganglio el antígeno se localiza en la superficie de los macró-

fagos dendríticos de los folículos, donde permanece fijo (REVILLARD, 1970) (229) y permite interacciones muy estrechas del macrófago con los linfocitos. El linfocito reconoce el antígeno por un receptor específico denominado unidad de reconocimiento (MITCHISON 1969) (193), situado en su superficie, que tiene estructura de inmoglobulina y se le designa como Ig X: Estos linfocitos constituyen las células sensibles al antígeno ("antigen-sensitive cells"). El papel esencial del macrófago sería pues, presentar el antígeno de una forma tal que pueda fijarse sobre la célula precursora y estimularla. Es posible, por otra parte, que el macrófago favorezca la estimulación de la célula linfocítica fijada al antígeno específico presente en su pared, transmitiéndole una molécula estimulante que posiblemente sea un ácido ribonucleico mensajero unido al antígeno (FISHMAN y ADLER, 1967) (85) ("partículas inmunogénicas"), si bien este hecho no está confirmado. Así pues, el macrófago desempeña un importante papel en la presentación del antígeno a las células antígeno-sensibles. Experimentalmente se ha demostrado que antígenos celulares tales como eritrocitos de carnero, no estimulan linfocitos aislados, mientras que las mismas células se estimulan por macrófagos que han tomado el antígeno; lo mismo sucede con antígenos bacterianos (GALLILY y FELDMAN 1967) (93). Con antígenos proteicos solubles, los macrófagos parecen actuar como un mecanismo concentrador del antígeno, por lo que pequeñas cantidades del mismo pueden comportarse como potentes estimulantes en presencia de tales macrófagos (MITCHISON 1968) (191). Este mismo autor no cree que ocurran cambios significativos del antígeno en el interior del macrófago.

Las células linfocíticas bursa-dependientes, estimuladas por el antígeno, sufren una transformación blástica y se diferencian en el sentido de célula plasmática productora de anticuerpos, a través de una serie de estadios celulares intermedios que se han catalogado

como plasmoblastos, células plasmáticas inmaduras y - células plasmáticas maduras. Una célula plasmática - fabrica anticuerpos de una sola clase o tipo (NOSSAL 1967) (211) y todas las células de una clona fabrican el mismo anticuerpo que la célula madre, que es el -- específicamente dirigido contra el antígeno que determinó su formación.

Durante la diferenciación de la célula plasmática existe un aumento en la cantidad y complejidad del -- retículo endoplásmico, con zonas dilatadas en forma de sacos y con ribosomas muy abundantes en torno al retículo endoplásmico. La célula plasmática tiene un núcleo ovalado excéntrico, con seios a ocho manchas de cromatina, aparato de Golgi muy desarrollado, grandes mitocondrias, etc. Esta célula asegura la síntesis, secreción y excreción de los anticuerpos.

Aunque los linfocitos timo-dependientes no están representados en la población final de células productoras de anticuerpos (DAVIES et al., 1967) (65), sin embargo de alguna manera deben contribuir en la respuesta inmunológica, ya que en su ausencia el número final de células plasmáticas está disminuido. MITCHISON (1969) (193) supone que las células timo-derivadas producen una unidad de reconocimiento (anticuerpo cooperativo) que actúa como mecanismo concentrador de antígeno para las células médula-derivadas, que -- son las precursoras de las células plasmáticas. Los linfocitos timo-derivados jugarían un papel adyuvante ("Helper effect") (REVILLARD, 1971) (235).

Se denomina antígenos celulares a aquellos que se -- encuentran en la superficie de las células o incluidos en la intimidad de las mismas. Como ejemplo de -- ellos pueden citarse los antígenos eritrocitarios, --

los antígenos de trasplante o antígenos de histocompatibilidad y los antígenos tumorales. El conocimiento de estos últimos (HADIDOW, 1965) (113); (HEBERMAN y STETSON, 1965) (121); (ESCULIES y MIQUEL, 1967) (80) (NAGEL, 1970) (206); (GÖTZ y GOLLER, 1971) (101); ——— (STEPHENSON et al., 1971) (267); (ALEXANDER, 1971) (3) abre las puertas al empleo de la inmunoterapia en el campo de los tumores como esperanza futura.

II.- ANTICUERPOS.- Pueden definirse como sustancias propias del organismo capaces de combinarse específicamente con un determinante antigénico.

Se pueden clasificar en dos grandes grupos:

- 1.- Anticuerpos adquiridos: Aquellos que se producen como respuesta a un estímulo antigénico.
- 2.- Anticuerpos naturales: Los que son sintetizados de forma aparentemente espontánea, sin que exista un estímulo antigénico conocido.

Se caracterizan por su capacidad de combinarse con el antígeno específico o con otros que tengan determinantes antigénicos idénticos o muy similares.

La combinación con el antígeno tiene lugar en áreas pequeñas de su molécula ("combining site") que se denominan "sitio activo". Se considera valencia del anticuer-

po al número de sitios activos que presenta cada molécula. La mayoría de los anticuerpos son bivalentes, pero existen algunos monovalentes y otros polivalentes. Son de naturaleza proteica y pueden ser antigenicos, si bien las áreas moleculares responsables de la antigenicidad son diferentes de las áreas de combinación.

Los anticuerpos pertenecen a una familia de proteínas designadas con el término de inmunoglobulinas (Ig).— Todos los anticuerpos son Ig, pero aún no se sabe con seguridad si todas las inmunoglobulinas son anticuerpos (ROWE 1971) (239). Al principio todas estas proteínas fueron globulinas beta e incluso alfa-2 son — inmunoglobulinas. (SEOANE, 1969) (248). Por este motivo la O.M.S. recomendó en 1964 una nomenclatura que ha sido aceptada universalmente. Desde entonces se — emplea el término "inmunoglobulina" para designar a los componentes del plasma sanguíneo y de otros fluidos orgánicos que tienen encomendada una función de anticuerpo. En la actualidad se conocen cinco clases de inmunoglobulinas normales, que se las designa como IgG, IgA, IgD, e IgE.

Todas las inmunoglobulinas tiene una estructura básica común descrita originalmente por PORTER en — 1962 y por COHEN y PORTER en 1964 (49). Constan de — cuatro cadenas de polipéptidos, iguales dos a dos, y unidas por puentes disulfuro y enlaces no covalentes: Dos cadenas pesadas o cadenas H ("heavy"), cuyo peso molecular es aproximadamente 50.000 (ROWE, 1971) (239) (de 53.000 a 75.000 según CEROTTINI, 1971) (46), y dos cadenas ligeras o cadenas L ("light"), de peso molecular 25.000 según ROWE (239) y 22.500 según CEROTTINI (46). Las dos cadenas H de cada Ig y las dos cadenas L son iguales y se disponen unidas por puentes — disulfuro, formando una especie de horquilla o tenedor de cuatro puntas, cuyos extremos libres se llaman extremos N-terminal o amino-terminal, con un doble — mango cuyos extremos libres se denominan extremos — C-terminal o carboxi-terminal. Esquemáticamente puede

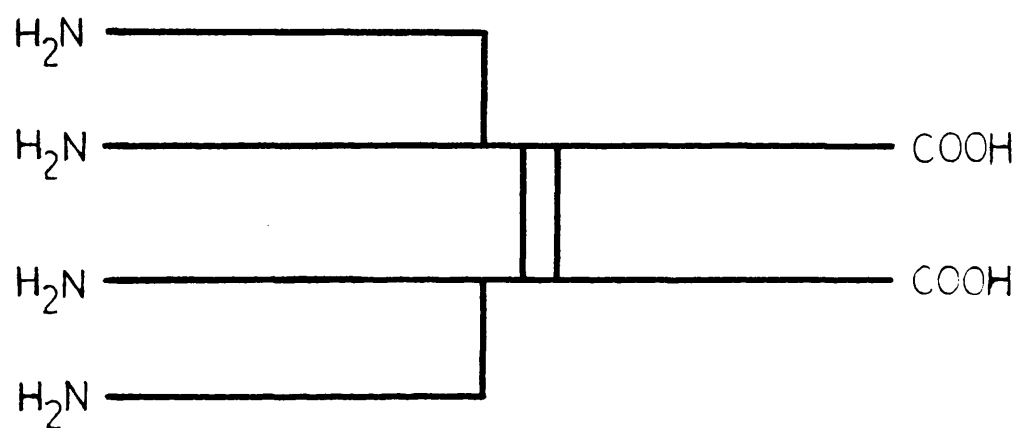


FIGURA 1

representarse según la fig.1.

Al microscopio electrónico la molécula de IgG adopta la forma de una Y (CEROTTINI) (46) oscilando el ángulo entre las dos ramas divergentes de la Y de 100 a 180°. Los tres componentes de la Y corresponden a los tres fragmentos que se obtienen por digestión enzimática de la IgG. Cuando la IgG es atacada por la papaina, se obtienen tres fragmentos de un tamaño parecido; dos de ellos son idénticos y corresponden a las dos ramas de la Y, denominándoseles Fab ("antigen binding"), por ser los responsables de la fijación del antígeno; consta cada uno de ellos de una cadena L completa y a la mitad amino-terminal de la cadena H contigua que se denomina Fd. El tercer fragmento, que corresponde al tramo horizontal de la Y, se denomina Fc (cristalizabile) y está formado por la mitad carboxi-terminal de las dos cadenas H. El fragmento Fc no fija el antígeno y por tanto no se comporta como anticuerpo, pero de él dependen otras actividades biológicas de las inmunoglobulinas, tales como su catabolismo, la fijación del complemento, la fijación a los macrófagos y mastocitos, paso a través de la placenta, etc.

Los enlaces disulfuro que presentan las Ig son de dos tipos: Intercatenarios e intracatenarios. Existen dos puentes intracatenarios en cada cadena L situados entre los aminoácidos 23 y 88 y 134 y 194, que son moléculas de cisteína. En cada cadena H existen cuatro puentes intracatenarios, situados entre los residuos 22 y 96; 145 y 193; 254 y 314 y 360 y 418, que son moléculas de cisteína. Los enlaces intercatenarios se disponen de la siguiente manera: Existe un puente disulfuro que une cada cadena L con la cadena H vecina y que salta del residuo 214 de la cadena L al residuo 213 de la cadena H. Las dos cadenas H están solidarizadas entre si mediante dos puentes disulfuro que unen los residuos 219 y 222 de ambas cadenas, que

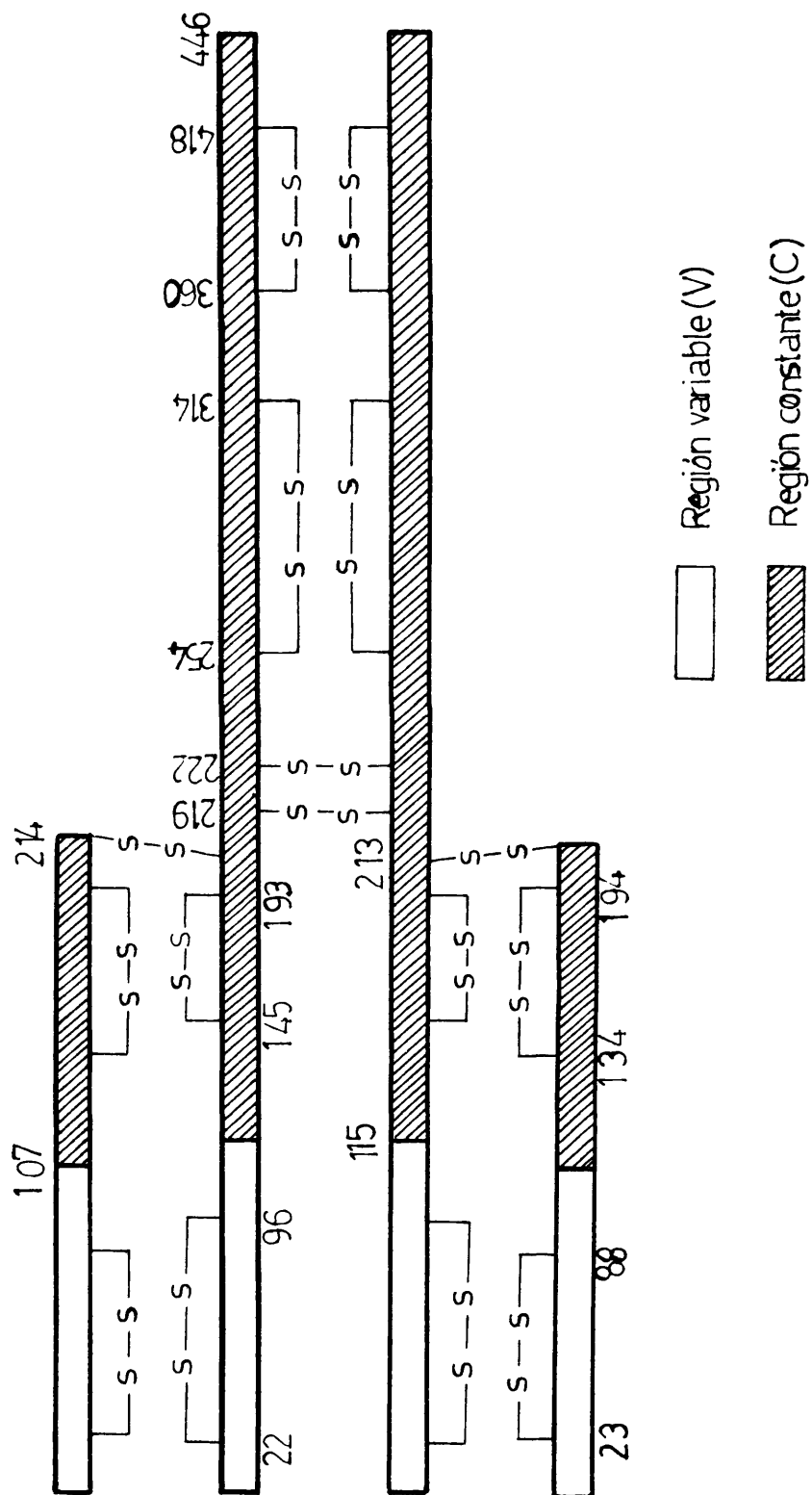


FIGURA 2

son moléculas de cisteína. La disposición de los puentes disulfuro queda esquematizada en la fig. 2 (imitada de PEREZ CUADRADO, 1972) (218).

La papaina rompe las cadenas pesadas entre los residuos 213 y 219, dando lugar a la aparición de tres fragmentos, dos de ellos idénticos, dos fragmentos Fab y el fragmento Fc. La pepsina rompe las cadenas pesadas entre los residuos 219 y 222, dando lugar a un fragmento F $(ab')_2$ en el extremo amino-terminal, y la mitad carboxi-terminal de la cadena H queda hidrolizada en péptidos de bajo peso molecular. Si los fragmentos F $(ab')_2$ son tratados por papaina, se obtienen dos fragmentos Fab y péptidos ligados por un enlace disulfuro. Si el fragmento F $(ab')_2$ se trata con un reductor se rompen los enlaces disulfuro intercadena pesada y se obtienen dos fragmentos Fab' semejantes a los fragmentos Fab. En determinadas condiciones los agentes reductores rompen los enlaces S-S intercatenarios que unen las cadenas L a las cadenas H y las pesadas entre si, lo que permite el estudio de cada cadena en particular y de cada uno de los monómeros del fragmento Fc, o el fragmento Fd.

La cadena ligera está formada por 214 aminoácidos (COHEN y MILSTEIN, 1967) (50). El aminoácido 107 permite distinguir dos partes en la cadena L: En la mitad carboxi-terminal, la secuencia de aminoácidos permanece casi invariable, por lo que a esta región se la denomina región C ((constante) mientras que en la mitad amino-terminal, la secuencia de aminoácidos varía de unas inmunoglobulinas a otras, de ahí su nombre de región V (variable). Así pues la región C se extiende del residuo 108 al 214 y la región V es la comprendida entre los residuos 1 y 107.

En las cadenas pesadas igualmente existe una región V y otra C, peor conocidas que las de las cadenas ligeras, pero se ha sugerido que se entendería desde el residuo 1 al 115 la región V y del 116 al 446 la región C (PEREZ CUADRADO, 1972) (218).

Dentro de las zonas variables (V) tanto en las cadenas L como H la variabilidad parece estar confinada a cortos tramos que alternarían con regiones constantes y a las cuales estaría encomendada la unión con el antígeno. De estos tramos dependería la especificidad de la Ig y serían los receptores antigénicos.

Se conocen dos tipos de cadenas ligeras: Cadenas K - (kappa) y cadenas λ (lambda) que difieren en su estructura primaria y pueden reconocerse mediante sueros específicos (ROWE, 1971) (239). Ambos tipos de cadena tienen una estructura primaria muy semejante y lo que varía es la secuencia de aminoácidos. MILSTEIN; ~~propone~~ propone la clasificación de las cadenas K en tres subtipos (KI, KII, KIII) y observa que en los individuos incluidos en un mismo subtipo difieren por término medio en unos 10 aminoácidos de los 107 que componen la región V, mientras que en individuos pertenecientes a diferentes subtipos, en la región V se encuentran variaciones de hasta 40 residuos. Así pues, mediante el estudio de las cadenas ligeras las Ig se clasifican en dos tipos K y λ y en la actualidad en tres subtipos KI, KII y KIII.

Por los caracteres antigénicos de sus cadenas pesadas las Ig se han clasificado en cinco ~~clases~~ clases: IgG, IgA, IgM, IgD e IgE. Las cadenas pesadas se designan con las letras griegas minúsculas (γ , α , μ , δ y ϵ) que corresponden a las letras romanas mayúsculas empleadas para las diferentes clases (G, A, M, D, y E) respectivamente. Dentro de estas clases se distinguen subclases: IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄ entre las IgG; IgA₁ e IgA₂

entre las IgA y por fin IgM₁ e IgM₂ entre las IgM, debido a diferencias antigénicas de las cadenas pesadas, correspondientes a diferencias de estructura. La actividad biológica de un anticuerpo perteneciente a una misma clase puede variar según la subclase a que pertenezca la Ig (CEROTTINI, 1971) (46).

Otra característica química de las Ig es su contenido en hidratos de carbono, que en proporciones variables (desde un 3,1% en la IgG a un 11% en la IgE) (ROWE, 1971) (239) forma parte de todas las inmunoglobulinas. Se encuentran enlazadas en la región C de las cadenas pesadas y su función no es bien conocida, aunque se piensa que sean necesarios para el paso de la Ig a través de la membrana celular en el momento de su secreción. (CUADRADO et al., 1970) (58).

Si bien la mayor parte de los datos apuntados hasta aquí se refieren a estudios realizados en la molécula de IgG, los datos que conciernen a las demás clases de Ig parecen corresponder al mismo esquema general. Sin embargo, a pesar de esta estructura básica común, existe una enorme variabilidad estructural de estas moléculas, hecho que constituye la base de sus propiedades biológicas. Tales variaciones asientan sobre bases genéticas y se establecen fundamentalmente a nivel de las regiones V, tanto de las cadenas ligeras como de las cadenas pesadas. Estas variaciones de la región V son las responsables de la especificidad de los anticuerpos. Por el contrario, la variabilidad en la región C parece estar relacionada con la especificidad antigénica, que constituye con la especificidad de anticuerpo, las dos características fundamentales de los anticuerpos.

En virtud de su especificidad antigénica, se describen tres niveles de heterogeneidad:

- a.- Variantes isotípicos o especificidad de especie: Comprenden todas aquellas variaciones estructurales presentes en las Ig de todos los individuos pertenecientes a la misma especie.
- b.- Variantes alotípicas o especificidad de grupo: Son variaciones estructurales específicas de grupos o subgrupos de individuos dentro de una misma especie. En la actualidad se han descrito tres sistemas principales de variantes alotípicas (58).
- 1.- Sistema Inv: Las variaciones asientan en las cadenas ligeras del tipo K (kappa). Dentro del sistema Inv se han descrito algunos subtipos (a, b; δ 1, 2, 3) que presentan diferencias raciales considerables. (MALAVE, 1970) (162).
 - 2.- Sistema Gm: Las variaciones asientan a nivel de las cadenas gamma de la IgG.
 - 3.- Sistema ISf: Las variaciones ocurren a nivel del fragmento Fc de la IgG₁.
- c.- Variantes idiotípicas o especificidad individual: Son variaciones enteramente individuales, en número muy elevado, que se localizan principalmente en la mitad amino-terminal de ambas cadenas.

Las propiedades de los anticuerpos están en relación con su estructura, de tal suerte que aquellas pueden dividirse en dos grandes grupos:

- A.- Propiedades dependientes del fragmento Fab.-

Las regiones amino-terminalles de las cadenas H y L, -- integrantes del fragmento Fab son las responsables de la especificidad del anticuerpo contra el antígeno que le hizo surgir.

Al parecer el lugar de combinación con el antígeno o sitio activo del anticuerpo, se sitúa en la región γ de las cadenas pesadas, como se demuestra en preparaciones de tales cadenas en presencia del antígeno específico. Sin embargo si a la preparación se adicionan cadenas ligeras, aumenta su actividad anticuerpo, de lo que debe deducirse que las cadenas L también tienen alguna capacidad de fijación del antígeno.

La administración de un antígeno soluble puede originar la formación de complejos antígeno-anticuerpo, capaces de producir lesiones en muchos órganos, debidas probablemente a su precipitación en la pared vascular (ROWE, 1971) (239). También pueden formarse tales complejos por la presencia de otros antígenos (microbianos, auto-antígenos, etc.) en el organismo.

B.- Propiedades dependientes del fragmento Fc.-

- 1.- Vida media de las Ig.- Es variable de una a otra clase de Ig, pero depende de la estructura del fragmento Fc. Solamente depende del nivel sérico de Ig en el caso de la IgG, -- pero el catabolismo de las demás clases de Ig no guarda relación con su concentración sérica.
- 2.- Activación del complemento (C').- Entraña una serie de efectos (lisis celular, activación de la fagocitosis, alteración de la permeabilidad capilar, etc.) que serán analizados después. Solo la IgM y las IgG (excepto la IgG₄) son capaces de fijar el primer com-

nente (C'1) del complemento y poner en marcha la - activacion de todo el sistema. La fijación del complemento tiene lugar sobre el fragmento Fc, para lo cual basta una molécula de IgM y son necesarias dos moléculas de IgG.

- 3.- Paso trasplacentario.- La única Ig que atraviesa la placenta es la IgG. Este hecho se ha explicado porque existiría un mecanismo selector de Ig a nivel de las membranas fetales, cuyas células tendrían un receptor que al fijarse al fragmento Fc de las demás clases de Ig, suspendería el paso de estas al feto.
- 4.- Fijación a los macrófagos.● Recientemente se ha demostrado (HUBER, et al., 1969) (125) que los macrófagos tienen en su superficie unos receptores capaces de fijar IgG y en algunas circunstancias IgM a través de su fragmento Fc. La trascendencia de este hecho aún no ha sido establecida, pero quizá sea importante en la opsonización de antígenos particulados o solubles para facilitar su endocitosis.
- 5.- Fijación de los mastocitos.- Estas células, los basófilos y quizás algunas otras, tienen en su superficie unos receptores que se unen al fragmento Fc de las IgE (reaginas) y originan liberación de sustancias farmacológicamente activas (histamina, serotonina) (PARDOE, 1970) (217).
- 6.- Algunos anticuerpos son capaces de fijarse a la piel como se demuestra con la prueba de la anfilaxia pasiva cutánea. Estos anticuerpos se fijan a la membrana celular mediante el fragmento Fc y uniéndose al -

antígeno originan la liberación de mediadores químicos responsables de fenómenos de hipersensibilidad inmediata. Se ha demostrado para las IgG y han resultado negativos los ensayos con IgM e IgA (PEREZ TAMAYO, 1968) (219).

Las características mas importantes de las diferentes clases de Ig se recogen en los cuadros (273) obtenidos con datos de ROWE (1971) (239), TOMASI (1970) (275), SOHIER y HENRY (1970) (257), GRAS (1971) (106) CEROTTINI (1971) (46), MILLAVE (1970) (162) y CUADRADO et al (1970) (58).

La Ig mejor conocida es la IgG y de ella se han descrito cuatro subclases (IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄). Está presente en la circulación y en los tejidos intersticiales interviniendo en la respuesta inmunitaria primaria, pero despues que la IgM y en menor proporción que ella. Interviene de forma importante en la respuesta secundaria, en los fenómenos de hipersensibilidad cutánea pasiva (anafilaxia cutánea pasiva) y en la inmunidad pasiva transmitida de la madre al fruto.

La molécula de IgG ha sido estudiada con el microscopio electrónico (DEUSCH y FUDENBERGH, 1969) (74), (CEROTTINI, 1971) (46), (GREEN, 1969) (107), lo que ha permitido determinar su forma y dimensiones, que se esquematizan en la fig. 3.

La IgA se encuentra sobre todo en las secreciones externas (nasal, faringea, salivar, bronquial, intestinal) por constituir un sistema de defensa a nivel de las mucosas. La molécula de IgA que se encuentra en las secreciones mucosas, tiene un coeficiente de sedimentación de 11S, mientras que la IgA sérica tiene una constante de sedimentación 7S (TOMASI, 1970) (275) Se ha demostrado que la molécula de IgA secretoria intacta, de peso molecular 390.000 y coeficiente de sedimentación 11S, está formada por dos moléculas de IgA sérica (dímero) y de otro "componente T", denominado pieza de transporte o pieza secretora, que

C U A D R O N O 2

PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS		IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
PESO MOLECULAR		150.000 160.000	170.000 340.000	850.000 900.000	180.000	200.000
COEFICIENTE DE SEDIMENTACIÓN		6,6S 7S	6,8S 11S	19S	6,2S 7S	8S
CONTENIDO EN HIDRÁTOS DE CARBONO		2,5% 3,1%	10% 10,7%	10,4% 11%	10%	10% 11%
CADENAS PESADAS	CLASE	γ $\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3, \gamma_4$ G_m	α α_1, α_2 $-$	μ μ_1, μ_2 $-$	δ $-$ $-$	ϵ $-$ $-$
	SUBCLASE ALOTIPOS					
CADENAS LIGERAS	TIPOS	κ λ Inv	κ λ Inv	κ λ Inv	κ λ Inv	κ λ $-$
	ALOTIPOS					
FÓRMULA MOLECULAR		$\gamma_1 \kappa_2$ $\gamma_2 \lambda_2$	$\alpha_1 \mu_2$ $\alpha_2 \lambda_2$	$\mu_1 \mu_2$ $\mu_1 \lambda_2$	$\delta_1 \mu_2$ $\delta_2 \lambda_2$	$\epsilon_1 \mu_2$ $\epsilon_2 \lambda_2$

CUADRO NO 3

PROPIEDADES BIOLOGICAS	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
PORCENTAJE DEL TOTAL DE Ig	70-80%	5-15%	3-10 %	0,2%	---
SINTESIS DIARIA EN mg/kg PESO	20-40	3-50	3-17	0,03-1,04	---
CATABOLISMO DIARIO (%del pool intravascular)	6,7	25	18	37	89
CONCENTRACION SERICA mg%	800-1600	140-280	50-190	0,3-40	0,001 - 0,014
VIDA MEDIA SERICA (dias)	20-28	4-6	4-5	2-8	---
TRANSFERENCIA PLACENTARIA	+	-	-	-	-
PRESENCIA EN L.C.R.	+	+	-	-	-
SECRECION SEROMUCOSA	+	+	-	-	-
FIJACION DEL COMPLEMENTO	+	-	+	-	-
HIPERSENSIBILIDAD CUTANEA	+ (ACP)	-	-	-	+ (reagina)
% Ig INTRAVASCULAR	55	40	84	74	?

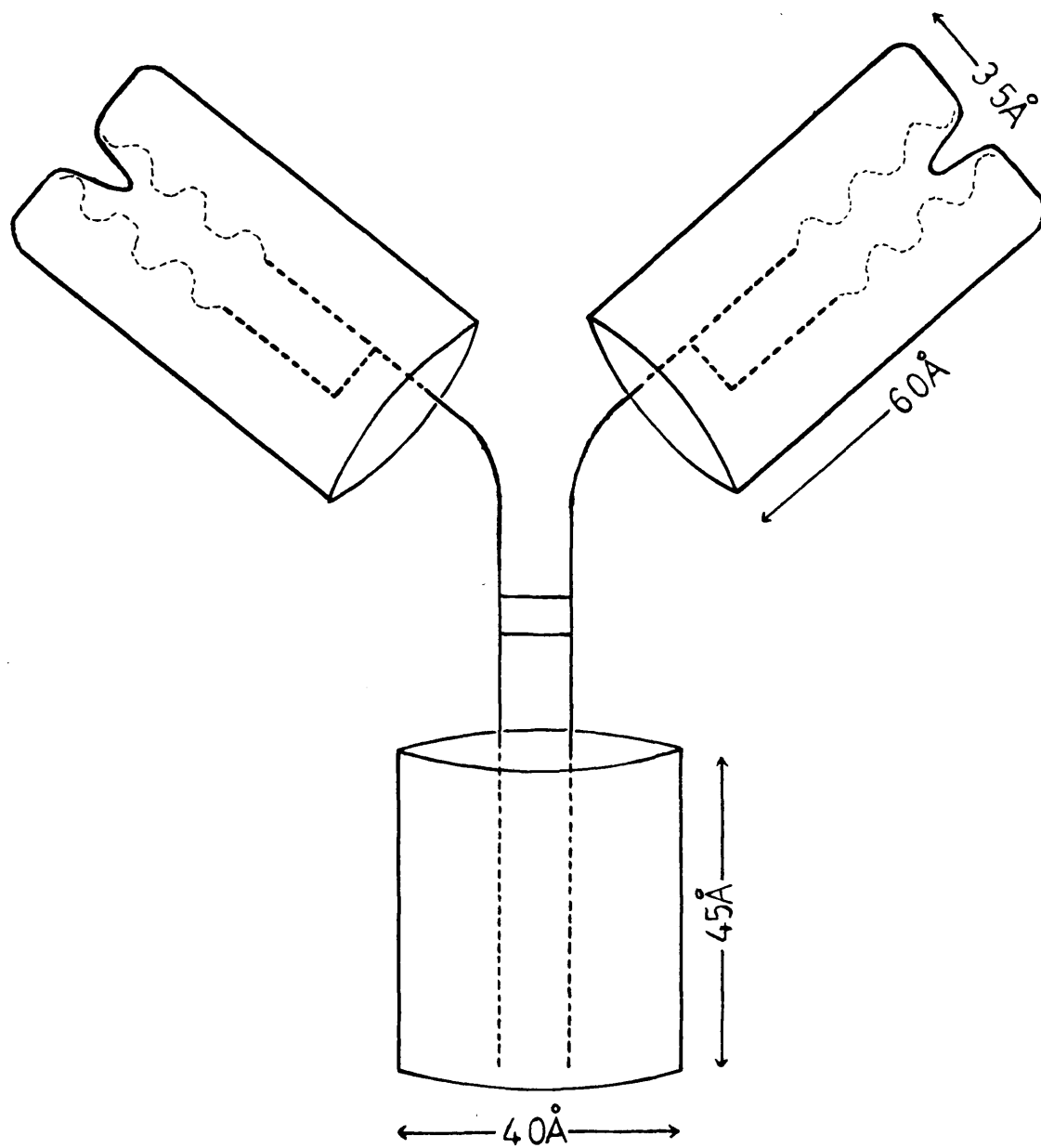


FIGURA 3

que es una glicoproteína de peso molecular 60.000. El componente T se sintetiza en las células del epitelio secretor, mientras que las moléculas de IgA son sintetizadas por las células plasmáticas presentes en el intersticio de las glándulas y en la lámina propia de la mucosa. La misión del componente T no es bien conocida, pero es posible que aumente la resistencia de la IgA a la proteólisis (TOMASI, 1970) (275) o intervenga en el transporte transepitelial de la IgA (CUADRADO, 1970) (58).

En el suero la IgA se encuentra en forma de monómero, dímero y trímero.

La IgM o macroglobulina, es predominantemente intravascular. Es la que primero se sintetiza ante un estímulo antigénico, interviniendo poco y de forma transitoria en la respuesta secundaria. La IgM se encuentra en forma de pentámero, formado por la unión de cinco unidades elementales, que se unen por su extremo carboxi-terminal mediante enlaces disulfuro, adoptando una forma estrellada o en roseta, que le permite actuar como anticuerpo polivalente.

La IgD es menos conocida que las anteriores. En el 70% de las IgD las cadenas ligeras son de tipo lambda al revés de lo que sucede en las demás Ig, en las que las cadenas ligeras son de tipo kappa en el 70%. Sus modalidades de acción no son conocidas, y aunque todavía no se ha demostrado su actividad como anticuerpo, su nivel sérico se encuentra elevado en las infecciones crónicas. Es una Ig predominantemente intravascular.

La IgE es la última descubierta y constituye los anticuerpos denominados "reaginas", que intervienen en la hipersensibilidad específica de tipo inmediato (A-

topia) y en el determinismo de la reacción de PRAUS-NITZ-KUSTNER.

La síntesis de anticuerpos tiene lugar a nivel de las células plasmáticas con gran celeridad; se ha estimado que se producen 2.000 moléculas de anticuerpo por segundo, lo que representa el 80% de la síntesis protéica del plasmocito.

La información genética de la síntesis de anticuerpos está contenida en el DNA nuclear, mas concretamente en el cordón C (OCHOA, 1969) (213) del DNA que es el que guarda la clave o mensaje genéticos. Por un proceso que se denomina "transcripción" la información se transmite al m-RNA, que es una copia del cordón C del DNA nuclear y la lleva al RNA ribosómico. A continuación tiene lugar el proceso de "traducción" del mensaje transportado por el m-RNA al RNA ribosómico, en virtud del cual el t-RNA o s-RNA coloca los aminoácidos específicos en la secuencia codificada originalmente por el DNA y transmitida por el m-RNA.

Las cadenas polipéptidos de las Ig se sintetizan a partir de dos regiones de propiedades muy diferentes: Una región V, que contiene el receptor antigénico, y otra región C, responsable de otras actividades biológicas de la molécula. La síntesis de cada región está controlada por su propio gen o cistron, denominado gen V y gen C (PEREZ CUADRADO) 1972) (218). Sin embargo, una sola molécula de m-RNA codifica las regiones V y C (SHARFFER y UHR) (252), por tratarse de una molécula policistrónica (OCHOA, 1969) (213), es decir una misma molécula portadora de varios mensajes, correspondientes a diferentes genes o cistrones. Las cadenas H se forman a nivel de polisomas de 18 a 40 unidades y las cadenas L en los polisomas de 6 o 7 unidades.

Las teorías que tratan de explicar la síntesis de anticuerpos pueden agruparse en dos grandes apartados:

- A.- Teorías instruccionalistas o informativas.-
 Todas ellas admiten un papel determinante del antígeno en la génesis de la especificidad del anticuerpo, de tal suerte - que el propio antígeno sería portador de una información estructural específica - para la elaboración del anticuerpo.

Dentro de este grupo se encuadran:

1.- Teorías del "templado directo";
 El anticuerpo se modelaría sobre el antígeno, para formar una estructura complementaria específica. Para HAUROWITZ - el antígeno atraería sobre sí los aminoácidos, cuya secuencia y posición reproducirían de forma complementaria la del determinante antigénico. Para PAULING el antígeno sería un molde sobre el que se pliega - la proteína y fija sus giros mediante puentes disulfuro, de tal suerte que la especificidad no dependería de la secuencia de aminoácidos, sino de su posición espacial (estructura secundaria y terciaria).

2.- Teorías del "templado indirecto" o de la información transmitida.-
 Según BURNET, el antígeno determinaría la aparición de un sistema enzimático específico responsable de la síntesis del anticuerpo correspondientes y capaz de ser transmitido hereditariamente a las células hijas. Para SCHWEET y OWEN el antígeno actúa como agente mutante a nivel del DNA nuclear, dando información específica sobre sus determinantes y ulteriormente este antígeno actúa como agente inductor sobre las células que han sufrido modificaciones específicas.

B.- Teorías selectivas o seleccionistas:
La síntesis del anticuerpo estaría — determinada por una información contenida en el genoma de las células productoras de los mismos. El antígeno no haría mas que seleccionar la parte del genoma responsable de la síntesis de su anticuerpo específico. Las teorías de este apartado pueden agruparse en dos tipos de hipótesis:

1.- Hipótesis somáticas: Las células encargadas de la producción de anticuerpos tienen su origen en la mutación somática de las células —

precursoras en los órganos linfoides, que daría lugar a la variedad de genes V necesaria para la especificidad del anticuerpo. En ausencia del antígeno específico correspondiente a sus receptores parietales de desaparecerían, mientras que cuando contactan con el — antígeno proliferan y forman una clona.

2.- Hipótesis germinales: Cada célula — tendría en su genoma todos los genes V, responsables de las regiones V de las Ig y por tanto de la especificidad de anticuerpo y el determinante antigénico lo que haría sería seleccionar el gen específico.

BURNET ha elaborado su ya clásica teoría de la "selección clonal", que asienta en una serie de premisas (219):

1.- El aparato inmunocompetente de un individuo consta de tantos grupos de células o clonas como anticuerpos específicos existan.

2.- En presencia de un antígeno determinado la clona correspondiente reacciona reproduciéndose y sintetizando el anticuerpo complementario.

3.- El gran número de clonas necesarias para hacer frente a todos los antígenos posibles, se originan durante la vida embrionaria por múltiples mutaciones de las células madres de las futuras células productoras de anticuerpos. Las mutaciones se producen al azar.

4.- Las clonas que tienen información para producir anticuerpos contra los antígenos presentes en el periodo embrionario son destruidas, con lo que se establece la posibilidad de distinguir entre lo propio y lo ajeno.

Para JACOB y MONOD (134), el antígeno desempeñaría un papel de inductor de la síntesis proteica por bloqueo del represor, producido por el gen regulador, del gen específico del anticuerpo considerado.

En definitiva las células efectoras de la inmunidad humoral son las células productoras de anticuerpos: Las células plasmáticas. La eliminación de los anticuerpos acumulados en las vesículas del retículo endoplásmico y en el espacio perinuclear, tiene lugar por lisis total de la célula, por apertura de vacuolas, por clasmotosis (emisión de un fragmento citoplásmico que una vez separado de la célula se lisa y deja en libertad el anticuerpo) y por microclasmotosis (aparecen unos surcos en la superficie celular que van profundizando y separando pequeños fragmentos citoplásmicos que se lisan y dejan en libertad anticuerpos).

III.º REACCION ANTIGENO-ANTICUERPO.- El determinante antigénico del antígeno y el receptor antigénico del anticuerpo, mediante una -

reacción química reversible y específica, cuando se ponen en contacto originan un complejo antígeno-anticuerpo. La fuerza que mantiene la unión antígeno-anticuerpo es una fuerza intermolecular débil, del orden de 4-14 Kcal. mol⁻¹ (las fuerzas intermoleculares fuertes originadas por enlaces iónicos o covalentes (207) son del orden de 50-100 Kcal. mol⁻¹) (PEREZ TAMAYO et al) (219).

Las fuerzas intermoleculares del complejo antígeno-anticuerpo se originan por los siguientes mecanismos:

- a.- Fuerzas de VAN DER WAALS o atracción mutua entre los átomos, débiles y que varían en razón inversa a la distancia interatómica elevada a la séptima potencia. Estas fuerzas varían entre 0,25 Kcal. mol⁻¹ entre átomos de hidrógeno y 1,9 Kcal. mol⁻¹ para átomos de nitrógeno y oxígeno.
- b.- Fuerzas de COULOMB: Son fuerzas de atracción entre iones de carga opuesta y vienen regidas por la ley de COULOMB (207), variando en relación directa del producto de sus masas y en razón inversa del cuadrado de su distancia. Su magnitud es de 4,5 Kcal. mol⁻¹ aproximadamente.
- c.- Fuerzas entre grupos polares no iónicos, sobre todo puentes de hidrógeno cuya magnitud es de unas 5 Kcal. mol⁻¹, variando en relación inversa a la 6ª potencia de la distancia.

La reacción antígeno-anticuerpo tiene diversas expresiones in vivo e in vitro, mediante las cuales se pone de manifiesto su unión. In vitro se utilizan las de precipitación (antígeno soluble), de aglutinación -

(antígenos particulados o en la superficie de una membrana celular), de hemólisis (utilizan los hematíes como indicadores, ya que al lesionarse su membrana como consecuencia de la reacción antígeno-anticuerpo y del complemento, permiten la salida de la hemoglobina al medio). Otras manifestaciones in vivo e in vitro son la neutralización de los efectos biológicos de virus y bacterias, fijación del complemento, fenómeno de Arthus, shock anafiláctico, reacción de PRAUSNITZ-KÜSTNER, etc. Por la naturaleza de las manifestaciones al formarse complejos antígeno-anticuerpo, los anticuerpos se clasifican en "precipitinas", "aglutininas", "hemolisinas", etc. pero se ha demostrado que un mismo anticuerpo, en circunstancias adecuadas, puede dar lugar a reacciones de precipitación, de aglutinación, etc.

Al producirse la unión antígeno-anticuerpo tienen lugar modificaciones físico-químicas en la molécula del anticuerpo de tal suerte que determinantes antigénicos ocultos pueden quedar expuestos: Son los anti-anticuerpos, uno de cuyos ejemplos en la clínica humana está constituido por el factor reumatoide del suero de enfermos afectados de artritis reumatoide.

Los complejos antígeno-anticuerpos no siempre son beneficiosos para el organismo, sino que en algunas circunstancias pueden producir daño tisular o celular. Este daño se origina por diferentes mecanismos: Liberación de mediadores químicos (anafilaxia); fijación del complemento (citólisis inmune); activación de polinucleares; depósito en forma de complejos insolubles o solubles en los espacios intercelulares, en la pared vascular, en el interior de los vasos, en los glomérulos renales, etc.

Entre los mediadores químicos, procedentes de los tejidos o del suero, liberados como consecuencia de la reacción antígeno-anticuerpo, a los que cabe imputar el daño celular o tisular como exponente de los fenómenos de hipersensibilidad, se han estudiado los siguientes:

a.- Histamina o β -imidazoletilamina, originada por decarboxilación de la histidina, que es un aminoácido presente en todas las proteínas completas y por tanto en todos los tejidos (LORENZO VELAZQUEZ, 1958)-(158). Está, por consiguiente ampliamente distribuida en el organismo, tanto en los tejidos como en los líquidos fisiológicos, siendo especialmente abundante en las células cebadas, en los gránulos citoplásmicos, en libre combinación con la heparina, y en menor proporción en las plaquetas y polinucleares basófilos. La histamina origina vasodilatación capilar, con aumento de la permeabilidad vascular y estimula la fibra muscular lisa. El mecanismo íntimo de la liberación de histamina no es bien conocido. La combinación de antígenos con anticuerpos ~~en~~, determina la liberación de histamina. Quizás al combinarse el antígeno con el anticuerpo este varíe de tamaño y disposición espacial y active un proenzima de la pared celular que establece una reacción en cadena, cuya consecuencia final es una liberación de histamina procedente de los gránulos citoplásmicos basófilos del mastocito.

b.- S.R.S. ("Slow reacting substance") o sustancia de reacción lenta. Es un ácido grado no saturado unido a una proteína, que todavía no ha sido identificado y que se produce abundantemente en el pulmón del cobaya y quizás también en el del hombre (HUGHES-JONES 1970) (126) En el íleon de cobaya produce una contracción mucho más prolongada que la histamina, y lo mismo sucede en el yeyuno del conejo, el intestino de las gallinas y en los bronquiolos del hom-

bre. El tejido que produce S.R.S. en mayor cantidad es el pulmón de cobaya. Aunque se ha sugerido que proviene de las células cebadas, la S.R.S. no está contenida en los mastocitos (126). Otros autores han sugerido la posibilidad de que se origine en los leucocitos polinucleares.

c.- Serotonina o 5-hidroxitriptamina.-

Se encuentra sobre todo en las células enterocromafines o argentafines de la mucosa intestinal, no existiendo en las células cebadas del hombre, aunque algunos autores (215) creen que existe en los espacios intergranulares. Estimula la contracción del músculo liso - (de los vasos, bronquios, intestino, vejiga, matriz, etc.) y aumenta la permeabilidad capilar. No parece desempeñar un papel importante en el hombre, - en cuanto a la reacción inmunitaria se refiere.

d.- Quininas plasmáticas.- Son polipeptidos derivados de las proteínas

circulantes, muy bien estudiados por ROCHA E SILVA (1971) (238). El primeramente conocido fue la bradiquinina, que es un polipeptido de 9 aminoácidos derivados de una α 2-globulina (bradiquininógeno) por acción proteolítica - (tripsina, plasmina, veneno de serpientes). Después se han conocido otros derivados con mas aminoácidos en el extremo amino-terminal de la bradiquinina, dependiendo del número de aminoácidos - la especificidad del enzima actuante. En la actualidad se conocen tres derivados de la bradiquinina: lisil-bradiquinina o kalidina, con diez aminoácidos ; metionil-lisil-bradiquinina con once aminoácidos y glicil-arginil-metionil-lisil-bradiquinina con trece aminoácidos. Los enzimas - proteolíticos, que se encuentran en forma de proenzimas inactivos (tripsinógeno, plasminógeno) son - activados por el complejo antígeno anticuerpo (219) y de esta suerte actúan sobre la α 2-globulina plasmática, liberando las quininas activas. Todos

ellos tienen una acción cualitativamente semejante (estimulación del músculo liso, aumento del flujo sanguíneo local, aumento de la permeabilidad capilar, caída de la tensión arterial) pero cuantitativamente existen grandes diferencias entre ellos (238): El aumento de la permeabilidad capilar es de diez a veinte veces mas potente con la glicil-arginil-metionil-lisil-bradiquinina y metionil-lisil-bradiquinina que con la bradiquinina y kalidina; en la estimulación sobre el ~~fluj~~on de cobaya sucede justamente lo contrario: Las de menor peso molecular son mucho mas activas que las mas pesadas, Sobre la tensión arterial, los efectos son mayores con las quininas de menor peso molecular. Por otra parte las quininas pesadas son mas resistentes a la acción de las quininas plasmáticas, fermentos inactivadores de las quininas.

Los efectos de la fijación del complemento sobre el complejo antígeno-anticuerpo serán analizados al tratar del complemento.

A los leucocitos polinucleares se les ha imputado la responsabilidad de producir la vasculitis observada en el fenómeno de Arthus, por el siguiente mecanismo: Al fagocitar los complejos antígeno-anticuerpo producen, verosimilmente, una liberación de enzimas proteolíticos lisosómicos que son los determinantes de la lesión de la pared vascular.

El depósito de complejos antígeno-anticuerpo, solubles o insolubles, en los espacios intersticiales, en la pared vascular o en el interior de los vasos, así como en los glomérulos renales (DIXON 1971) (75) puede originar daño tisular.

IV.- COMPLEMENTO.- En 1893, BRUCHNER designó con el nombre de alexina a un componente sanguíneo que destruía las bacterias y los glóbulos rojos extraños, perdiendo el suero su poder bacteriolítico cuando era calentado a 56 grados. BORDET en 1895, descubrió el complemento, como componente normal de cualquier suero y le identificó con la alexina de BUCHNER, al observar que para que se produjera la vibriolisis o fenómeno de PFEIFFER se requería la presencia de dos sustancias: Una estable y específica, el anticuerpo o sensibilizador, y otra termolábil e inespecífica, para la que se propuso el término de complemento.

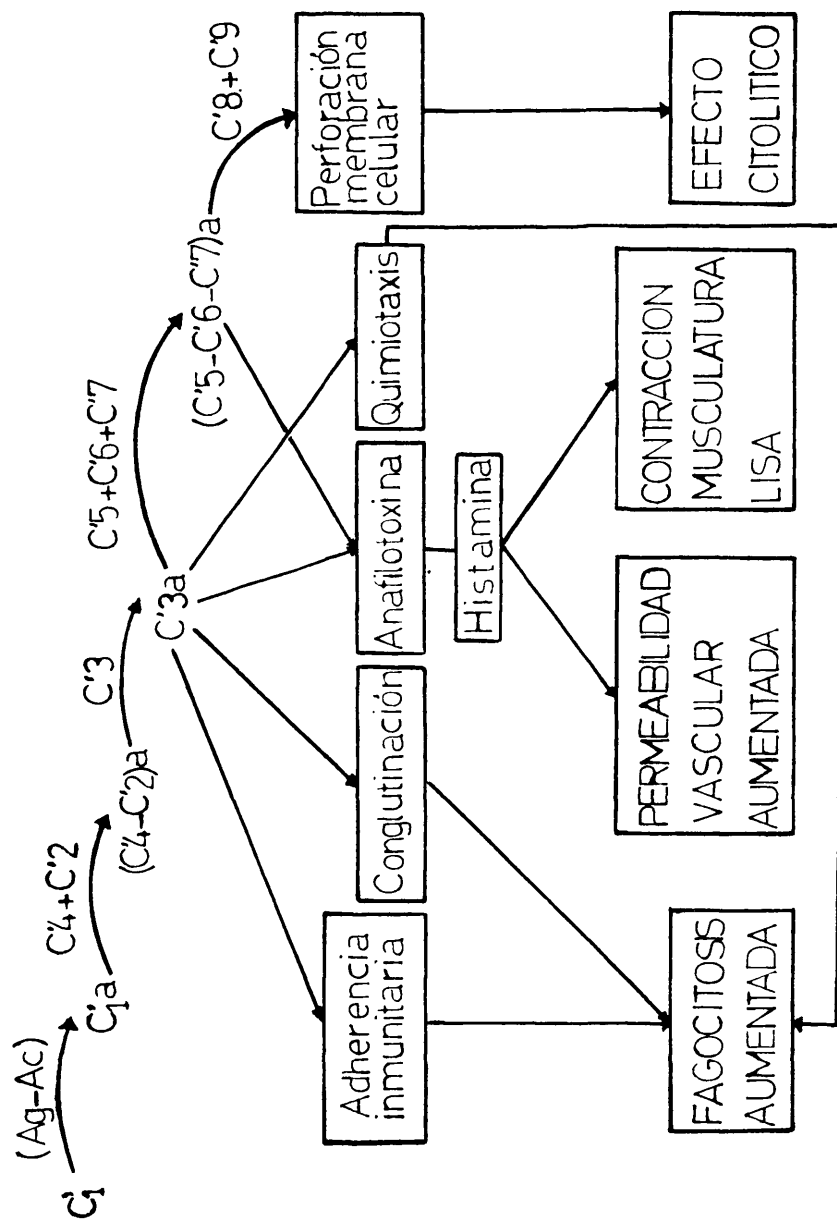
Desde entonces hasta la actualidad (YACHNIN, 1966) (303), (MULLER-EBERHARD, H.J., 1968) (205), (CROB y JEMELKA) 1971) (56), se han hecho muchos progresos en el conocimiento del complemento, de tal suerte que podemos definirlo como un sistema de proteínas séricas que reaccionan de forma secuencial con un complejo antígeno-anticuerpo. Tal sistema está integrado por nueve componentes que totalizan once factores, ya que el primer componente es un polímero integrado por tres monómeros (ORIOLO 1969) (215).

Se trata de proteínas séricas con pesos moleculares comprendidos entre 60.000 y 400.000 (56), que se encuentran en el suero bajo forma inactiva. Se designan estas proteínas con los símbolos: C'1 --- (C'1_q + C'1_r + C'1_s), C'2, C'3, C'4, C'5, C'6, --- C'7, C'8 y C'9. Por activación de un componente, se forman enzimas activos que hacen posible la activación del componente siguiente. Los componentes activados se designan con el mismo símbolo de los componentes inactivos pero añadiendo una "a" a continuación (C'1a, C'2a, etc).

La activación del primer componente (C'1) tiene lugar por interacción con el fragmento Fc de las IgG y IgM, que están unidas por su fragmento Fab con el antígeno soluble en forma de complejos inmunes o con los antígenos celulares. Una vez activado C'1 se van incorporando nuevos componentes se van produciendo sustancias biológicamente activas, que desempeñan una serie de funciones. Cuando todos los componentes del complemento se activan (desde C'1 a C'9) y el antígeno está situado en la superficie de una célula, se produce la destrucción de la célula. Entre las sustancias biológicamente activas originadas en la activación del complemento, se han señalado:

- a.- Las anfilotoxinas, que son liberadoras de histamina, produciendo aumento de la permeabilidad vascular y contracción de la musculatura lisa. Se derivan de los componentes C'3 y C'5.
- b.- Factor quimiofáctico de los leucocitos, del que se conocen dos variedades (56): Una de peso molecular elevado, similar a un complejo de C'3, C'6 y C'7 activados y otra de menor peso molecular que se deriva de C'3.
- c.- Factores favorecedores de adherencia inmunitaria y de la coagulación, derivados de C'3 y estimulantes de la fagocitosis.

Los hechos anteriormente expuestos quedan resumidos en el cuadro nº 4, imitado de ORIOL (215).



CUADRO Nº 4

Así pues el complemento tiene unas actividades variadas pudiendo desempeñar "in vivo" un papel protector del organismo (participación en los mecanismos de defensa contra los agentes infecciosos) pero también una acción nociva en los procesos inmunopatológicos, bien por la liberación de sustancias farmacológicamente activas o por su efecto citotóxico que entraña la lisis celular (HUMPHREY y DOURMASHKIN, 1969) (129), con perforación de la membrana celular, tumefacción de las mitocondrias, disminución del tamaño del núcleo, entrada de Na^+ y salida de K^+ y macromoléculas al medio, tumefacción celular, etc. que conducen a la muerte de la célula.

CHAPTER VI

INMUNIDAD CELULAR.-

En la respuesta inmune de mediación celular, la eventual destrucción del material antigénico no tiene lugar por medio de anticuerpos convencionales como en la inmunidad humoral, sino que es ejecutada por células linfoides y células del S.R.E.

La fagocitosis fue descubierta por METCHNIKOFF en 1882 al, observar que la inyección de un material extraño en los tejidos de un equinodermo, determinaba una respuesta celular singular: El material extraño (bacteria, colorante) era rápidamente rodeado, ingerido y eventualmente destruido por células móviles. La fagocitosis constituye un mecanismo inespecífico importantísimo de la resistencia natural del organismo (HALPERN, 1964) (114) - contra los agentes microbianos y parasitarios.

La fagocitosis es realizada por una serie de células, a las que genéricamente se denomina fagocitos de los que se distinguen dos variedades:

a.- Fagocitos fijos: Son las células de los endotelios capilares y las células reticulares del hígado (células de KÜPFER), del bazo, médula ósea, formaciones linfoides, etc., es decir los elementos integrantes del S.R.E. o mejor sistema retículo-histiocitario (60). Estos elementos celulares, en determinadas circunstancias, - pueden hacerse móviles y constituyen los histocitos de ASCHOFF o macrófagos de METCHNIKOFF.

- b.- Fagocitos móviles, de menor tamaño, que constituyen los microfagos (pormorfonucleares neutrófilos).

Según HALPERN (1964) (114), la fagocitosis, en virtud de una serie de experiencias realizadas, está sujeta a ciertas leyes. Cuando la fagocitosis se refiere a partículas indiferentes (colorantes, coloides, partículas protéicas, etc.), la intensidad de la misma puede expresarse por el denominado "índice de fagocitosis", que se representa por K, siendo $C = C_0 \times 10^{-kt}$, de donde al tomar logaritmos $K = \frac{\log C_0 - \log C}{t}$, en cuya fórmula C es la concentración de las partículas en sangre en mg/ml. después de un tiempo de t minutos y C_0 es la concentración inicial. La velocidad de fagocitosis es una función directa de la concentración sanguínea de las partículas e inversa de la cantidad de partículas ya fijadas en las células.

Cuando la fagocitosis se refiere a elementos biológicos (hematíes heterólogos y bacterias) las leyes que rigen la fagocitosis de partículas inertes, se ven influidas por la intervención de factores específicos, que se fijan en la superficie de los elementos formes e influyen sobre el curso de la misma. Cuando existen anticuerpos humorales específicos, la velocidad de fagocitosis aumenta considerablemente. También se ha demostrado que la estimulación del S.R.E. mediante agentes no patógenos o débilmente patógenos (BC.G. o Mycobacterium Phlei), o extractos bacterianos, tales como el Wxb 3148 (114), aumenta el índice de fagocitosis y la resistencia del organismo a infecciones bacterianas y tumores experimentales.

Sin embargo, los agentes microbianos fagocitados pueden sobrevivir e incluso reproducirse en el interior de los fagocitos. Por tanto fagocitosis no es sinóni-

mo de destrucción, ya que ésta depende del poder bactericida de los fagocitos, es decir de su provisión enzimática. El contenido de enzimas intracelulares del S.R.E. aumenta cuando los animales de experimentación, bajo la influencia de la estimulación específica, poseen una elevada resistencia antiinfecciosa.

Cuando los fenómenos inmunitarios de mediación celular resultan nocivos para el organismo que les sufre, se habla de hipersensibilidad celular o retardada, que en líneas generales se caracteriza (REVILLARD, 1970) (230) por tener especificidad antigénica, aparición retrasada con respecto a la administración del antígeno, predominio de células mononucleares en las lesiones tisulares locales, y transferencia por células linfoides vivas y extractos subcelulares y no por suero de animal sensibilizado. Bajo el epígrafe de hipersensibilidad celular se incluye la inmunidad antitissular (inmunidad de trasplante y fenómenos auto-inmunitarios) y la hipersensibilidad a productos bacterianos (reacción tuberculínica y reacciones similares obtenidas con la inyección de los productos bacterianos correspondientes en enfermos con brucelosis, fiebre tifoidea, lues, estreptococos e incluso en enfermedades por virus y hongos), a proteínas simples, (ovoalbúmina, proteínas séricas heterólogas) y la hipersensibilidad de contacto a compuestos químicos sencillos (cloruro de picrilo, 2-4 dinitrofluorobenceno).

Aún cuando la inmunología celular es todavía una disciplina muy reciente y no pueden admitirse dogmatismos, la investigación continuada sobre este campo en los últimos años, ha permitido establecer una serie de pilares sobre los que se asientan nuestros conocimientos actuales, si bien es verdad que en ocasiones, tales hechos tienen como soporte la base móvil de la hipótesis aún no confirmada.

El fenómeno fundamental de las reacciones inmunitarias celulares está representado por la "actividad del -

linfocito" (REVILLARD, 1970) (231) debida a la interacción a nivel de la pared del linfocito de dos estructuras químicamente complementarias: El antígeno y un receptor antigénico específico. Las consecuencias de esta activación tienen su expresión morfológica en la transformación linfoblástica y un aumento en la síntesis de ácidos nucleicos, seguido de mitosis. También puede acompañarse de la síntesis de factores humorales (factor inhibidor de la migración de los macrófagos, linfotoxina, etc) que son característicos de las reacciones de inmunidad celular. Vamos a analizar un poco más detalladamente estos hechos.

La etapa inicial de toda reacción inmunitaria consiste en el reconocimiento del antígeno por una célula linfoide ("antigen recognition"). Este tiene lugar por un "receptor" complementario del antígeno, situado en la superficie del linfocito, cuya naturaleza aún se discute, que fija el antígeno. En ciertos casos se trata de una inmunoglobulina no identificada, por lo que se la denomina IgX, hecho que ha sido demostrado experimentalmente: La formación de rosetas con hematíes de carnero es inhibida al añadir suero anti-Ig y por otra parte las propiedades inmunológicas de los linfocitos, disminuyen o se anulan cuando son tratados con sueros anti-cadena L, mientras que con los sueros anti-cadena H no siempre se obtiene el mismo efecto.

Las células que fijan el antígeno pueden estudiarse gracias a una serie de procedimientos cuya finalidad común es hacer visible el antígeno (REVILLARD y BROCHIER, 1971) (235). Entre los métodos propuestos cabe citar:

- 1.- Bacterio-adherencia: Consiste en contar los linfocitos que han aglutinado bacterias en su superficie tras la incubación de los mismos durante una hora en una suspensión bacteriana.

- 2.- Marcaje isotópico del antígeno y auto-radiografía.
- 3.- Marcaje del antígeno con isotiocianato de fluoresceína.
- 4.- Partículas de bentonita recubiertas de antígeno.
- 5.- Inmunocito-adherencia: Método de las rosetas puesto a punto por BIOZZI y ZAALBERG (28) y desarrollado por BACH (7). Se utiliza como antígeno hematies heterólogos (glóbulos rojos de carnero) que rodean a modo de corona a los linfocitos fijadores del antígeno.

Las células que fijan el antígeno en su superficie pertenecen principalmente al grupo de los linfocitos timo-dependientes: La timectomía neonatal, en un animal no inmunizado, reduce en gran manera el número de células que forman rosetas y además el suero antilinfocitario, que actúa fundamentalmente sobre los linfocitos timo-dependientes, suprime "in vitro" el fenómeno de las rosetas naturales.

En la literatura anglo-sajona existe un cierto confu-sionismo para designar estas células fijadoras del antígeno, ya que se emplean diferentes denominaciones que deberían corresponder a propiedades diferentes (REVILLARD, 1971) (234). Las "antigen-binding cells" corresponden a las células fijadoras del antígeno en su superficie. Las "antigen-reactive cells" son células que fijan el antígeno para desencadenar una respuesta inmunitaria. Las "antigen-sensitive cells" son células mas especializadas, que intervienen en la primera fase de la respuesta inmunitaria fijando el antígeno para transmitir a otras células la capacidad de multiplicarse y transformarse en células productoras de anticuerpos.

La interacción a nivel de la pared celular del receptor y del antígeno específico entraña la "activación" del linfocito que se traduce por la transformación linfoblástica. Aparecen grandes células redondas, con citoplasma intensamente basófilo, — gran núcleo central de cromatina clara, con uno o mas nucleolos bien visibles. Cuando tales células se observan al microscopio electrónico, su citoplasma aparece repleto de ribosomas, pero tiene muy escaso retículo endoplásmico. Son las "blast cells" o células pironinófilas (por sus apetencias tintoriales). Esta gran célula blástica comienza a dividirse, siendo el intervalo medio entre dos mitosis de doce horas aproximadamente. (234).

En el plano bioquímico la activación del linfocito es muy rápida, pues algunos minutos después de la interacción antígeno-receptor es demostrable un aumento de adenosin-monofosfato y de adenilcilasa, aumento de los lípidos, de la fosforilización de las nucleoproteínas y de la acetilización de las histonas. Una hora después se acelera la síntesis de ácido ribonucleico, sobre todo del R.N.A. ribosómico y una ruptura o al menos un aumento de permeabilidad de los lisosomas, con paso de enzimas hidrolíticos al citoplasma y en suma aumenta la síntesis de proteínas. A las 24 horas existe un incremento de glucógeno intracelular y a partir de las 36 horas aumenta la incorporación de timidina marcada en el ácido desoxirribonucleico (VALENTINE 1970) (286).

La activación del linfocito exige la intervención de diferentes clases de células que cooperan entre sí. Para obtener la transformación linfocitaria en presencia de antígenos o de células alogénicas es necesaria la existencia de un pequeño porcentaje de macrófagos. Cuando se trata de cultivos de linfocitos de la sangre, los monócitos hacen el papel de los macrófagos. El modo de interacción de los diferentes tipos celulares no es bien conocido, pero — está demostrado que en ausencia de macrófagos o de

monocitos, los linfocitos cultivados no responden ante el estímulo antigénico específico.

En un cultivo normal de linfocitos existen islotes linfocitarios en corona ~~en~~ ~~torno~~ a un monocito -- pudiendo penetrar los linfocitos en el monocito -- por un fenómeno de emperipolesis o permanecer unidos a su superficie por un pseudópodo (231). El aspecto morfológico sugiere una interacción monocito-linfocito, cuyo mediador sería, o bien una proteína ("factor blastogénico", "factor mitogénico"), o bien un ácido ribonucleico de bajo peso molecular, elaborado por los macrófagos o los monocitos.

Modernos trabajos sobre fusión celular (NAVARRO, 1972) (208) demuestran la posibilidad de obtener células híbridas en determinadas circunstancias, a pesar de haber sido considerada hasta ahora la membrana celular como una gran muralla que protege el contenido celular de los insultos procedentes del exterior. Algunos virus, como el "Sendai" y otros virus infecciosos, actúan sobre las células tangentes en una suspensión y precisamente sobre las zonas de membrana que se encuentran en contacto, -- hacen aberturas a través de las cuales pasa el material de una a otra célula, persistiendo el material genético de ambas células dentro de una misma membrana celular. La célula híbrida resultante se denomina "heterocorion", porque al menos durante algún tiempo, contiene núcleos de distinto origen. La fusión celular se ha conseguido incluso entre células de diferentes especies.

Creemos que ante estos hechos, no repugna la idea de que material procedente de los macrófagos pueda ser trasvasado a los linfocitos a través de la zona de contacto entre ambas células y sea este material "prestado" por el macrófago el responsable de la -- activación del linfocito.

Otro hecho interesante es Inmunología celular es

el de la especificidad antigénica, pues cuando se inmuniza un animal por un antígeno artificial, constituido por una molécula de haptene (dinitrofenol) unido a una proteína (albúmina de buey) los anticuerpos son específicos del hapteno y solo se fijan sobre la molécula de dinitrofenol aunque esté unida a una proteína distinta de la inyectada. Sin embargo la reacción cutánea de hipersensibilidad retardada, no puede obtenerse mas que con el hapteno unido a la misma proteína que sirvió para inmunizar el animal. Esta especificidad antigénica se denomina "especificidad del portador" ("carrier specificity") y demuestra que para llegar a la activación del linfocito, el contacto entre este y el antígeno debe abarcar una superficie mucho mayor que la necesaria para la unión del antígeno con el anticuerpo. Esta zona de contacto no debe ser menor que la comprendida entre ocho moléculas de lisina.

El interés suscitado por el estudio de los mecanismos celulares y bioquímicos de la hipersensibilidad retardada, ha hecho posible el desarrollo de una serie de reacciones in vitro que han permitido hacer progresar nuestros conocimientos en este terreno durante los últimos años.

Las células linfoides de un animal específicamente sensibilizado frente a un antígeno, son capaces de destruir otras células cuyas superficies esten cubiertas por el mismo antígeno: Es la reacción de linfocitotoxicidad o efecto citolítico o de destrucción de las células blanco por el linfocito sensibilizado.

Otra característica esencial de la inmunidad celular es que la incubación de linfocitos sensibilizados en presencia del antígeno específico, origina la aparición en el sobrenadante del cultivo, de una serie de sustancias mediadoras responsables de ciertos aspectos biológicos de este tipo de inmunidad, tales como

la transferencia de hipersensibilidad retardada, la inhibición de la migración de los macrófagos, el efecto citolítico sobre las células blancas, el efecto mitogénico sobre linfocitos no sensibilizados y la reacción inflamatoria con infiltrado de células mononucleares de aparición retardada, obtenida mediante la inyección intradérmica de este sobrenadante en el animal sensibilizado. Aunque para la producción y liberación de estas sustancias es necesaria la activación del linfocito, como expresión de una reacción inmunológica del linfocito sensibilizado frente a su antígeno específico, el efecto de tales mediadores parece poder efectuarse en ausencia del antígeno y por tanto tendrían una acción inespecífica. Este hecho puede explicar el ya conocido de que en los infiltrados celulares de la hipersensibilidad retardada, la mayor parte de los linfocitos acumulados no están sensibilizados.

En los cultivos de linfocitos sensibilizados la presencia del antígeno específico determina la transformación blástica de los mismos (células pironinófilas). Sin embargo, una respuesta similar puede obtenerse cuando se cultivan linfocitos no sensibilizados en presencia de estimulantes no específicos, tales como la fitohemaglutinina o el suero antilinfocitario, ya que todo individuo normal posee linfocitos que en su pared presentan estructuras complementarias para estos estimulantes. La ausencia o disminución de tales estructuras solo acontece en circunstancias patológicas, tales como enfermedades del sistema linfático (enfermedad de Hodgkin, linfosarcomatosis, etc.) y en los déficits congénitos de inmunidad celular (enfermedad de DI GEORGE, enfermedad de NEZELOF y la linfocitopenia o agammaglobulinemia linfopénica de tipo suizo, que mas bien es un déficit mixto de inmunidad celular y humoral). La reacción por estimulantes específicos no se acompaña necesariamente de la síntesis de mediadores humorales.

Con los estimulantes no específicos, se alcanza el máximo de estimulación a partir del tercer día mientras que con el estimulante específico no se consigue antes del sexto o séptimo día, y comprende menos linfocitos.

Cuando en un cultivo de linfocitos se mezclan los correspondientes a dos sujetos histoincompatibles, ambos tipos celulares se transforman y proliferan, constituyendo la denominada reacción mixta linfocitaria, tan empleada en inmunidad de transplante.

Los linfocitos responsables de todas estas reacciones obtenidas in vitro, son timo-dependientes, de tal suerte que la timectomía neonatal experimental la administración de suero antilinfocítico o el drenaje continuado del conducto torácico, suprime este tipo de reacción. Por el contrario, la burssectomía en las aves no tienen ningún efecto sobre la transformación linfoblástica y la proliferación "in vitro" en presencia del antígeno, mientras que suprime la síntesis de anticuerpos tanto "in vivo" como "in vitro".

El efecto citolítico de los linfocitos sensibilizados, cultivados en presencia del antígeno específico, ha sido demostrado mediante diferentes modelos experimentales e incluso los linfocitos de un animal no sensibilizado, estimulados por fitohemaglutinina, son capaces de lisar células antigénicamente extrañas cuando se cultivan en contacto con ellas (ELVES, 1971) (79). El efecto citolítico se asocia a la transformación blástica y proliferación de los linfocitos, pero los estudios cinéticos de BERKE (1970) (21) demuestran que la lisis de las células blanco tiene casi inmediatamente después de la activación del linfocito por el antígeno.

El mecanismo íntimo en virtud del cual la célula sensibilizada realiza la lisis de la célula blanco es desconocido. La destrucción de las células blanco puede ocurrir por fagocitosis en algunas ocasiones (PEREZ TAMAYO et al) (219), en cuyo caso los anticuerpos específicos y el complemento, favorecen en gran manera el proceso. Cuando la lisis de la célula blanco tiene lugar por contacto con el linfocito sensibilizado, nos movemos en el terreno de la hipótesis. Según ROWE (1971) (239) y ELVES (1971) (79), es razonable admitir que los linfocitos sensibilizados portan alguna forma de Ig en su membrana, cuya naturaleza exacta no se conoce, aunque parece poco probable que sean anticuerpos séricos que cubren pasivamente su superficie. La misión de este anticuerpo en la superficie del linfocito sería la de facilitar su adherencia a la célula blanco. La acción lítica sobre esta célula sería ejercida por el propio anticuerpo célula-limitante, o bien por paso de material citotóxico del linfocito a la célula blanco o de los fermentos lisosómicos contenidos en el linfocito a través de puentes intercelulares (ELVES 1971) (79). Otros autores como PEREZ TAMAYO (219), aportan otro posible mecanismo consistente en lesiones de la membrana de la célula blanco ("digestion de contacto") por enzimas fijos a la membrana del linfocito sensibilizado. Al parecer la lisis celular, puede estar favorecida por la presencia de IgA en los cultivos de linfocitos y células blanco, ya que el efecto citolítico disminuye si se agrega anti-IgA al cultivo.

En algunas ocasiones, sobre todo en los casos de inmunidad de trasplante, el daño tisular puede obedecer a fenómenos de tipo mecánico responsables de una isquemia que determina la muerte celular. La oclusión de los vasos sanguíneos como consecuencia del acúmulo intravascular de células mononucleares

o bien su emplazamiento perivascular y estenosis por compresión de las vénulas, con trombosis secundaria, puede llevar a la necrosis isquémica de los tejidos. Por otra parte, a la trombosis vascular también puede llegarse por la interacción de los linfocitos sensibilizados sobre las células endoteliales.

Entre los mediadores humorales de la inmunidad celular -- (WOLSTENCROFT, 1970) (297), se han descrito una serie de sustancias, que no son Ig, y que son sintetizadas activamente por los linfocitos sensibilizados en presencia del antígeno específico, obteniéndose del sobrenadante de los cultivos de linfocitos. No todos los factores han sido -- identificados, sino que su denominación corresponde mas -- bien a las acciones biológicas obtenidas con la inyección de sobrenadante de los cultivos de linfocitos. Se han descritos los siguientes:

1.- Factor de la inhibición de la emigración -- de los macrófagos o M.I.F. ("migration -- inhibitory factor"). Su naturaleza química aún no es conocida, pero se sospecha que se trate de una proteína, de -- peso molecular 60.000-70.000 no dializable, difícil de -- conservar, resistente al calor, a la ribonucleasa y --- desoxiribonucleasa pero atacable por la tripsina. No se -- encuentra preformado en los linfocitos sino que es sintetizado activamente por las células expuestas a su antígeno. Su difusión en los tejidos se limita a una superficie muy reducida y participa en la génesis del infiltrado de células mononucleares, características de la hipersensibilidad retardada.

2.- Factor de transferencia ("transfer factor"):
Capaz de transmitir a un receptor normal -- un estado de hipersensibilidad celular específica contra -- el antígeno que ha determinado la activación del linfocito.

La actividad de este factor, no se modifica cuando se trata con tripsina o ribonucleasa. Unos creen - que se trata de un polinucleótido de peso molecular inferior a 10.000. Otros afirman que es un ácido - nucléico de un peso molecular aproximado a 4.000.

3.- Factor mitogénico o factor transformante, también denominado "factor de reclutamiento": Es un factor que determina la transformación blástica y proliferación de linfocitos no sensibilizados, en presencia del antígeno que ha determinado su aparición. Parece tratarse de una proteína de bajo peso molecular responsable de una amplificación de la respuesta inmunológica.

4.- Factor quimiotáctico de los monocitos ("Monocyte chemotactic factor"): Es un factor que ha sido separado del M.I. F. y que atrae a los monocitos.

5.- Factor reactivo cutáneo ("skin rective factor"): Inyectado por vía intradérmica a un receptor sensibilizado, determina la aparición de una -- reacción cutánea del tipo de la hipersensibilidad -- retardada, mostrando su máxima expresividad a las -- 8-16 horas, con lesiones histopatológicas de infiltración mononuclear.

6.- Factor liberador de histamina ("histamine releasing factor"): Es un factor capaz de liberar histamina y otras -- sustancias farmacológicamente activas de origen plaquetario.

7.- Factor citotóxico o linfo toxina, que que probablemente es una proteína de bajo peso molecular, capaz de destruir diferentes tipos celulares de cultivo, o al menos de detener su crecimiento.

8.- Factor inhibidor de la transformación linfoblástica: Seria el responsable de la limitación de la respuesta inmunológica de mediación celular.

9.- El L.N.P.F. (lymphnode permeability factor"), extraído por EILLOUGHBY (296) de un macerado de ganglios linfáticos, cuando se inyecta por vía intradérmica, --- determina un aumento de la permeabilidad vascular capilar y un acúmulo local de leucocitos. Es un --- factor soluble, que puede obtenerse de ganglios --- normales y la reacción local que provoca, no tiene ninguna especificidad antigénica. Este factor --- no seria un mediador humoral de inmunidad celular.

CHAPTER VII

TOLERANCIA INMUNOLOGICA.-

Constituye una forma particular de respuesta inmunitaria y consiste en un estado de no reactividad específica frente a un antígeno, que administrado a un individuo normal, determina la aparición de células efectoras de la inmunidad humoral o celular (sensibilización).

La tolerancia inmunológica puede ser (REVILLARD et. al.) (236) completa, cuando con los medios de que disponemos, no se puede detectar la presencia de anticuerpos o células sensibilizadas, y parcial o disociada, cuando solo uno o varios componentes de la reacción inmunitaria tradicional, están abolidos.

En concepto de tolerancia inmunológica está basado en una serie de criterios:

- 1.- Está inducida por material habitualmente antigénico para otros miembros de la misma especie.
- 2.- Es específica para el antígeno que la indujo, de tal suerte que la reactividad inmunológica está conservada para otros antígenos diferentes. Al parecer el determinante antigénico de la tolerancia inmunológica es distinto del de los anticuerpos e inmunidad celular. Estos antígenos, capaces de inducir tolerancia específica, se denominan genéricamente tolerágenos.

3.- No sigue la ley del todo o nada, sino que existen grados intermedios de tolerancia: Niveles bajos de anticuerpos, trasplantes de vida prolongada, reacciones de hipersensibilidad retardada apagadas, etc.

4.- El estado de tolerancia inmunológica puede desaparecer rápida y permanentemente, cuando al animal tolerante se le administran células linfoides procedentes de otro animal específicamente sensibilizado frente al mismo antígeno. También puede extinguirse el estado de tolerancia mediante la administración de células linfoides no sensibilizadas, pero el procedimiento es menos eficaz. (GOWANS et al., 1962) (102).

5.- El estado de tolerancia también puede terminar espontáneamente, bien por la simple eliminación del antígeno o bien por la producción de anticuerpos específicos por el organismo tolerante, quizá frente a antígenos de reacción cruzada. El mantenimiento de la tolerancia exige la presencia continuada del antígeno, por lo que en caso de antígenos solubles, la administración de antígeno debe ser repetida en el tiempo, no siendo necesaria en caso de antígenos capaces de multiplicarse, (células, bacterias).

6.- La tolerancia inmunológica puede ser transferida pasivamente, mediante la administración de células linfoides, de un donante tolerante, a un receptor timectomizado e irradiado.

7.- El test de la transferencia del linfocito normal (ELVES, 1969) (78) es negativo en el individuo tolerante.

8.- Ausencia de la estimulación de linfocitos en cultivo mixto unidireccional (236), cuando se mezclan linfocitos de un animal tolerante con linfocitos de un híbrido en primera generación.

- 9.- Ausencia de anticuerpos detectables en el individuo tolerante.

Todos estos criterios permiten distinguir la tolerancia de la hiporeactividad inmunológica, bien sea inespecífica, (radiaciones, inmunodepresores) o específica, pero debida a factores ajenos al aparato inmunocompetente (antígenos en la cámara anterior del ojo o en el cerebro).

Los procedimientos para inducir tolerancia inmunológica varían según la edad del individuo, pudiendo distinguirse dos grandes grupos:

A.- Tolerancia inducida en el periodo embrionario.

B.- Tolerancia inducida en la edad adulta.

Por lo que se refiere al primer tipo de tolerancia, las observaciones iniciales, se realizaron en gemelos dizigóticos de ganado bovino, que comparten la misma circulación placentaria (OWEN, 1945). En estos animales, cada uno de ellos mostraba eritrocitos de dos tipos serológicamente diferentes: Los propios y los del tipo perteneciente al otro animal. El fenómeno fue bautizado con el nombre de quimera, en recuerdo de los monstruos mitológicos, constituidos por la asociación de porciones corporales pertenecientes a distintos animales. Desde entonces el término quimera inmunológica, se ha extendido para designar la convivencia pacífica del aparato inmunocompetente de un individuo con células antigénicamente diferentes, independientemente de las circunstancias que motivaron la presencia de estas.

El quimerismo eritrocitario ha sido tambien descrito en el hombre (NICHOLAS et al 1957) (209), (WOODRUFF y LENNOX, 1959).

El hallazgo de quimeras inmunológicas espontáneas llevó a BURNETT y FENNER (1948) a formular una teoría general de las respuestas inmunitarias que predecía el fenómeno de la tolerancia inmunológica como una de sus consecuencias. Tratando de explicar el fallo de los animales adultos para reaccionar contra sus propios tejidos, propusieron que las células corporales tendrían unos componentes propios ("self-marker") y que la capacidad para reconocer sus propias estructuras ("self") se desarrollaría durante la vida embrionaria y neonatal. Por este motivo, postularon que la exposición a un antígeno durante la vida embrionaria, sería la causa de que mas tarde fuese reconocido como propio ("self") y no existiera respuesta inmunitaria contra él; es decir, existiría una tolerancia específica para ese antígeno.

Esto fue demostrado despues experimentalmente por BILLINGHAM, BRENT y MEDAWAR, (1953) (25), al comprobar que cuando a embriones de ratón CBA se les inyectaba intra-útero una suspensión de células esplénicas procedentes de ratones A, al llegar a la edad adulta, toleraban injertos cutáneos de ratones A. En trabajos ulteriores, estos mismos autores, ensayaron otras vias de administración del antígeno (intravenosa, subcutánea, intraperitoneal) y en tiempos variables tras el nacimiento.

Sin embargo esta hipótesis está sometida a revisión, ya que se ha demostrado experimentalmente que fetos de oveja son capaces de rechazar aloinjertos cutáneos y mas recientemente, tambien se ha puesto en evidencia que fetos de oveja y de zorra mochilera o tlacuache (PEREZ TAMAYO et al. 1968) (239), producen anticuerpos contra antígenos heterólogos, y por otra parte, disminuyendo la dosis de antígenos administrada al embrión de ratón, en lugar de -

tolerancia inmunológica, puede inducirse una inmunidad de trasplante.

BUSSARD cree que la presencia o ausencia de anticuerpos no es un problema de edad sino que depende de la relación entre cantidad de antígeno administrado y número de células inmunocompetentes del receptor, de tal suerte que cuando el número de células inmunocompetentes es suficiente para la cantidad de antígeno administrada, se produce una reacción inmunitaria clásica. La tolerancia inmunológica sería la consecuencia de una dosis excesiva de antígeno en relación al número de células inmunocompetentes disponibles.

Por lo que respecta a la tolerancia inmunológica inducida en el adulto, los procedimientos empleados dependen de varios factores:

- 1.- DE la dosis y naturaleza del antígeno.
- 2.- De la vía de administración.
- 3.- De la asociación de inmunodepresores a la administración del antígeno.

1.- Dosis y naturaleza del antígeno.- Se puede distinguir:

a.- Parálisis inmunológica de FELTON.- Originalmente fue conseguida en el ratón, al inyectar polisacáridos de neumococo en dosis quinientas veces superior a la necesaria para conseguir la producción de anticuerpos. La tolerancia así inducida, dura de 15 a 18 meses, es específica y puede conseguirse incluso en animales previamente inmunizados, si bien en este caso se requieren dosis mucho mayores de antígeno. Los animales así tratados muestran una incapacidad para producir anticuerpos específicos.

b.- Hiprreactividad por sobrecarga con antígenos protéicos, que es similar a la parálisis inmunológica de FELTON. Es la tolerancia por "inundación antigénica" de DIXON, inducida en el conejo con grandes dosis de proteínas heterólogas séricas. Dura aproximadamente seis meses, existiendo una incapacidad para — elaborar anticuerpos específicos.

c.- Parálisis inmunológica acumulativa.— En este procedimiento se utiliza la administración prolongada de pequeñas dosis de antígeno débiles, que van reduciendo específicamente la reactividad inmunológica del animal así tratado. La utilidad de este procedimiento se ha demostrado con antígenos protéicos y de histocompatibilidad, alcanzandose grados mas profundos y estables de tolerancia que con una dosis masiva de antígeno. Gracias a este procedimiento, se han realizado dos observaciones muy importantes:

i.- El fenómeno de la tolerancia inmunológica se desarrolla simultáneamente al de la respuesta inmunitaria (producción de anticuerpos y células sensibilizadas), ya que con determinadas dosis de antígeno se pueden identificar anticuerpos específicos en el suero, pero simultáneamente se obtiene una disminución de la — reactividad inmunológica posterior. Por tanto la administración de un antígeno se sigue de un doble efecto (HALPERN, 1969) (115): Sensibilización de las células inmunológicas maduras ya comprometidas, e inducción de un estado de tolerancia activa en — las células jóvenes o neo-formadas y que todavía — no han estado comprometidas desde el punto de vista inmunológico. El mantenimiento de una tasa conveniente de antígeno da lugar, poco a poco a un — desplazamiento dinámico de la población celular en el sistema, en virtud del cual, las células sensibilizadas son progresivamente sustituidas por células tolerantes.

ii.- Existe una dosis crítica (115) para cada antígeno, de tal suerte que si el antígeno se administra a una dosis superior, se obtiene tolerancia. Cuando se administra el antígeno a una dosis inferior a la crítica, se obtiene una reacción inmunológica de sensibilización. Esta dosis es independiente de la edad del individuo, y depende, por una parte, de la velocidad con que se metaboliza en antígeno y por otra de la cantidad de células inmunocompetentes disponibles. Sin embargo, recientemente se ha podido demostrar (MITCHISON 1968), con antígenos solubles muy purificados a dosis inferiores a las inmunógenas la obtención de tolerancia ("low dose tolerance"). Por tanto existen dos zonas de dosificación del antígeno con capacidad para la inducción de tolerancia: Dosis de micro-gramos, inferiores a las dosis inmunógenas ("low dose tolerance") y dosis de miligramos, paralizadoras ("high dose tolerance") de las reacciones de sensibilización.

La solubilidad del antígeno es importante para conseguir tolerancia, de tal suerte que todos aquellos procedimientos que determinan una agregación molecular aumentan el carácter inmunogénico del antígeno, probablemente debido a que los agregados moleculares y los antígenos insolubles son retirados rápidamente de la circulación, fagocitados por los elementos del R.S.E., mientras que los antígenos solubles (tolerógenos) se eliminan mucho mas lentamente, a medida que van siendo metabolizados.

La estructura química del antígeno, tambien es importante ya que su comportamiento como tolerágeno es tanto mayor cuanto menor sea su peso molecular y cuanto mas próxima sea su composición química a la de los componentes del organismo que le recibe.

2.- Via de administración del antígeno.- La tolerancia se obtiene, habitualmente, cuando se administra el antígeno por una vía que asegure una gran difusión del mismo: Via oral, - vía intravenosa, vía intraperitoneal. Las inyecciones del antígeno por vía subcutánea o intradérmica no originan tolerancia.

a.- Fenómeno de SULZBERGER-CHASE.- Estos autores observaron en el cobaya, que la administración de arsfenemina por vía oral (CHASE) o de neoarsfenamina por vía intravenosa (SULZBERGER), les prevenía de la aparición de fenómenos de hipersensibilidad celular, cuando recibían una dosis del mismo hapteno por otra vía que habitualmente los sensibilizaba.

Después se ha demostrado experimentalmente, que la administración de 2-4-dinitrobenceno y 1-2-4-trinitrobenceno por vía oral al cobaya adulto induce un estado de tolerancia a estos haptenos, que impide el desarrollo de fenómenos de hipersensibilidad celular y síntesis de anticuerpos específicos, cuando tales antígenos se administran por vías que en animales control resultan inmunógenas.

b.- Via intravenosa.- La administración intravenosa de un antígeno soluble, frecuentemente induce un fenómeno de tolerancia. Este hecho constituye una gran esperanza en el campo de los trasplantes, pues representa un proceder mucho menos agresivo que los procedimientos de inmunosupresión, cuyos efectos secundarios pueden ser tan peligrosos como el propio trasplante.

Cuando se inyectan células linfoides vivas, se pretende conseguir una quimera inmunológica, para que las células inyectadas pueblen y proliferen en el receptor pero en ocasiones se origina una reacción injerto-contrainjerto (G.V.H.R.) y aparece una enfermedad homogénea.

Se ha intentado obtener la tolerancia mediante una inyección única masiva de células o inyecciones múltiples, repetidas en días sucesivos, pero hasta el momento solo se ha obtenido tolerancia para antígenos de histocompatibilidad débiles, aunque es posible que aumentando las dosis llegur a conseguirse para los antígenos fuertes. (BRENT y COWLAND, 1962) (30).

Para evitar la posibilidad de G.V.H.R. se han empleado extractos tisulares sin células (bazo, riñón, hígado), con resultado similar, y células muertas, con peores resultados.

c.- La vía intraperitoneal también puede ser útil para obtener tolerancia, como se ha demostrado mediante la administración ^{de proteínas} plasmática en ratas (PEREZ TAMAYO et al. 1968) (219), sobre todo cuando se administran α -2 globulinas en dosis única o múltiple. Tal procedimiento prolonga la supervivencia de un porcentaje estimable de aloinjertos cutáneos. El mecanismo por el que se induce la tolerancia es desconocido, pero probablemente se deba a que las α 2-globulinas y los antígenos de histocompatibilidad compartan áreas tolerágenas de especificidad cruzada.

3.- Procedimientos de inmunodepresión no específica asociados a la administración del antígeno.- Permiten inducir estados de tolerancia con dosis del antígeno que en circunstancias normales resultarían inmunógenas, ya que con los inmunodepresores se consigue un estado de hiporreactividad no específica. (GOWLAND, 1965) (104).

Se han utilizado prácticamente todos los procedimientos depresores de la reactividad inmunológica, pero especialmente la irradiación total, la timectomía, las drogas y, últimamente, el suero antilinfocítico (MONACO, 1970) (196), que determina una hiporreactividad inespecífica junto a la administración de un

antígeno determinado para conseguir una tolerancia específica para este antígeno. Este procedimiento - se ha mostrado útil en diversas especies animales - e incluso en el hombre, consiguiéndose una tolerancia, cuya duración varía de 3 a 29 meses (219) (según la especie animal y el antígeno empleado), específica para el antígeno que la indujo, no modificándose la reactividad inmunológica para otros antígenos. Cuando a estos animales tolerantes se les inyectan células linfoides de animales no inmunizados se rompe la tolerancia.

Siempre que se trata de obtener tolerancia con células linfoides vivas, debe considerarse la posibilidad de que se produzca una reacción injerto-contrahuesped (G.V.H.), cosa que sucede cuando el receptor es un animal inmunológicamente incompetente o es un híbrido en primera generación.

Teorías sobre la tolerancia.- La tolerancia inmunológica es peor conocida que la respuesta inmunitaria clásica.

Según la teoría de la selección clonal, en el embrión o recién nacido se elimina totalmente la clona de células que contiene información para desarrollar una reacción inmunitaria contra el antígeno tolerágeno. La tolerancia es una ausencia de respuesta inmunitaria. Extendida esta teoría a la tolerancia inducida en el adulto, hay que admitir la muerte de células embrionarias encargadas de originar la población de células inmunocompetentes, capaces de reaccionar contra el antígeno. Sin embargo la teoría de la selección clonal para explicar la tolerancia inmunológica en la actualidad se presta a severas críticas y no explica algunos de los aspectos de la tolerancia, como sucede - por ejemplo con la necesidad de que el antígeno esté presente para perpetuar el estado de tolerancia. Si la clona de células encargada de la respuesta inmunitaria no está presente, para que se necesita la presencia del antígeno ?.

Otra posibilidad para explicar la tolerancia es considerar este estado como proceso activo cuya manifestación sería la ausencia de respuesta inmunitaria. Se trataría de un bloqueo de la célula inmunocompetente en su capacidad de diferenciación hacia la célula efectora (productora de anticuerpos o sensibilizada) de la respuesta inmunitaria clásica, determinado por la forma de presentación del antígeno. Cuando el antígeno llega a la célula inmunocompetente en forma de partícula inmunógena, aquella se transforma en célula efectora. Sin embargo cuando el antígeno llega en forma directa a la célula inmunocompetente, esta queda bloqueada en su capacidad de diferenciación hacia célula efectora de la respuesta inmunitaria y se produce el estado de tolerancia inmunológica. Sin embargo no se conoce el mecanismo de este hipotético bloqueo.

También puede explicarse la tolerancia por un fenómeno de facilitación inmunológica (VOISIN, 1970) (292) — por producción de anticuerpos facilitantes que bloquearían el antígeno, interponiéndose entre éste y la célula inmunocompetente (bloqueo aferente), o entre la célula blanco y el linfocito sensibilizado (bloqueo eferente) . (MILLER, 1971) (190). Otros autores (219), piensan que el antígeno origina en las células tolerantes, la producción de enzimas que le degradan y específica y rápidamente, impidiendo su acceso a las células receptoras de la respuesta inmunitaria.

Algunos autores (HALPERN, 1970) (115), piensan que — existirían dos poblaciones celulares, unas inmunológicamente maduras, responsables de la reacción inmunitaria clásica, y otras inmunológicamente jóvenes, no comprometidas, responsables de la tolerancia inmunológica dependiendo del predominio de unas y otras la presentación de inmunidad o tolerancia.

El fenómeno de la facilitación inmunológica^o de ~~amplifi~~
cación inmunológica (190), ha sido muy bien estudiado

en los últimos años (VOISIN, 1970) (292), (SHAIPANICH et al., 1971) (251), y uno de sus frutos más recientes ha sido la prevención de la inmunización Rh en madres en situación de riesgo mediante la administración de anticuerpos humanos anti-D, ofreciendo un ~~fruto~~ ^{factor} esperanzador como mecanismo supresor de la inmunidad de trasplante. (STUART et al., 1978) (269) (FRENCH y BATCHELOR, 1969) (88), (STUART et al., 1968) (270), (BATCHELOR, et al., 1970) (18).

La reacción inmunitaria de trasplante es una reacción doble (292): Reacción de rechazo y reacción de facilitación, que retarda o anula la anterior. La reacción de facilitación es mediada por anticuerpos específicos contra los antígenos de histocompatibilidad existentes en las células trasplantadas.

La facilitación puede ser pasiva, cuando los anticuerpos de facilitación son sintetizados por otro animal específicamente sensibilizado contra el antígeno y son administrados al receptor, o activa, cuando los anticuerpos de facilitación se elaboran en el receptor por un contacto previo con el mismo antígeno. Para la facilitación activa se han empleado antígenos subcelulares, células esplénicas, células de la médula ósea etc., convenientemente tratados (antígenos solubles, o tejidos liofilizados o con el sobrenadante de tejidos liofilizados), por vía intraperitoneal o intravenosa.

La facilitación pasiva se obtiene mediante la administración de antiseros específicos e incluso con el fragmento F (ab')₂ de los anticuerpos (SHAIPANICH et al., 1971) (251) obtenido mediante la precipitación de las globulinas con sulfato sódico al 18 % y ulterior digestión de las mismas con pepsina.

Las propiedades biológicas de estos anticuerpos específicos han sido muy bien estudiadas por VOISIN - (1970] (292), tanto in vitro (inmunofluorescencia, - hemaglutinación, marcaje con isótopos, etc., que demuestran su fijación a las células blanco sin fijar el complemento, o hemólisis inmune e inmunocitotoxicidad, con formación de verdaderas perforaciones en las membranas celulares por fijación del complemento), como in vivo (inhibición de las células linfoides del receptor por anticuerpos que fijan el complemento e impiden la formación de anticuerpos contra el antígeno y la anulación o retraso en el rechazo - de un homotrasplante). Para unos autores los anticuerpos facilitantes son IgG, fijadora del complemento, mientras que para otros se trata de IgA, que no fija el complemento. (Depende de la forma en que se administre el antígeno, como veremos después).

El estudio de este procedimiento de inmunosupresión específica, inicialmente planteado para el trasplante de tumores, después se ha extendido al trasplante de tejidos y órganos normales, y a la prevención de la reacción injerto contra huésped, al tratamiento de enfermedades autoinmunes, etc., abriendo nuevos horizontes estos campos.

El mecanismo de la facilitación inmunológica es muy complejo. En el caso de la facilitación pasiva, se pueden considerar las siguientes posibilidades:

- 1.- Bloqueo aferente o inhibición primaria, que conduce a una depresión de la inmunización. Los anticuerpos facilitantes se unen al antígeno impidiendo su reconocimiento por las células inmunocompetentes, bien a nivel periférico (lugar de emplazamiento del injerto, por ejemplo) o bien a nivel central (a nivel de los ganglios regionales).

2.- Bloqueo eferente o inhibición secundaria, que origina una protección contra la inmunización. Los anticuerpos de facilitación, que no fijan el complemento (IgA) (VOISIN, 1970) (292) impiden a los anticuerpos fijadores del complemento unirse a las células blanco, bloqueando la lisis celular o bien las células blanco se revisten de anticuerpos facilitantes, dificultando la actuación de los linfocitos sensibilizados. En definitiva queda bloqueada la reacción inmunitaria, mediada por anticuerpos fijadores del complemento o por células sensibilizadas.

En la facilitación activa es el propio animal el que fabrica los anticuerpos facilitantes, que actúan de la misma manera que en el caso de la facilitación pasiva. Si el antígeno se administra en forma soluble, se produce una "desviación inmune", con formación exclusivamente de IgA (VOISIN, 1970) (292), que no fija el complemento. Sin embargo si se administra el antígeno junto con el adyuvante de FREUND, se producen IgG, que fija el complemento, y también IgA, que no fija el complemento.

El embarazo constituye aparentemente una paradoja en la inmunidad de trasplante, ya que se trata de un autoinjerto que debería originar una reacción inmunitaria de la madre contra los antígenos de histocompatibilidad paternos de las células del hijo y este debería ser tolerante a las de la madre, pues ha estado en contacto con ellos durante la vida embrionaria. Sin embargo ni la madre rechaza al feto, ni este tolera trasplantes de la madre. Se ha tratado de explicar el éxito de este "trasplante natural" que representa el embarazo por diversos mecanismos, pero ninguno de ellos es plenamente convincente: Tolerancia inmunológica de la madre hacia los antígenos del feto, antigenicidad reducida de los tejidos fetales, cierto papel de filtro de la placenta para antígenos, estado hormonal específico con disminución de la reactividad inmunológica en la embarazada, estimulación antigénica por vía inadecuada, etc.

CHAPTER VIII

ONTOGENIA Y FILOGENIA DE LOS MECANISMOS

INMUNOLOGICOS

I.- ONTOGENIA. Como todo proceso biológico, las reacciones inmunológicas constituyen un fenómeno que se inicia, alcanza un periodo de madurez o máxima expresividad, disminuye y por fin se extingue (SCHMID, 1967) (243).

Durante la vida fetal y embrionaria, a pesar de existir síntesis protéica, no se han conseguido detectar cantidades apreciables de Ig, lo que indica que durante este periodo no existen células inmunocompetentes.

El recién nacido presenta un nivel de Ig séricas similar al de la madre, pero tales Ig proceden, pasivamente de la madre y no son sintetizadas activamente por el nuevo ser. Se trata de una transferencia materno-fetal a través de la placenta, solo permeable para la IgG. La transferencia materna puede prolongarse después del nacimiento a través de la leche materna, que sobre todo contiene IgA, pero al parecer en la especie humana, la absorción de Ig por vía intestinal es prácticamente nula (ALBORES et al., 1.966) (2).

Desde el punto de vista cualitativo, el recién nacido solamente posee IgG, de procedencia materna, cuyo nivel desciende considerablemente durante las primeras semanas de vida extrauterina. A partir de las -

ocho o diez semanas del nacimiento, el nivel de Ig comienza a elevarse de nuevo, pero a expensas fundamentalmente de la IgM y en menor grado de la IgA e IgG, ya sintetizadas activamente por el recién nacido. El título de Ig alcanza el nivel del individuo adulto en un periodo variable de tiempo, dependiendo de numerosos factores, pero que puede evaluarse en 1-4 años.

La IgG, que tenía un título similar al del adulto - en el momento del nacimiento, alcanza su mínimo a los tres meses aproximadamente, para empezar a elevarse de nuevo a partir de este momento, rápida y progresivamente durante los dos primeros años y posteriormente a un ritmo mas lento, alcanzando las concentraciones del adulto a los 10-16 años (133). La IgM solamente existe en pequeñas cantidades en el recién nacido, pero aumenta rapidísimamente durante el primer año de vida, ya que es la principal Ig del periodo neonatal. Después su concentración se eleva mas lentamente hasta alcanzar los títulos del adulto aproximadamente a la misma edad que la IgG. La IgA, de la que solo existen indicios en el momento del nacimiento, va aumentando progresivamente hasta los 16 años, en que alcanza el título de los adultos (133).

El recién nacido y el lactante presentan una deficiencia inmunitaria, como consecuencia de estos hechos, y es un riesgo bien conocido el peligro de infección durante estas edades, por lo que en algunos servicios de Pediatría administran profilácticamente, de un modo sistemático, antibióticos a todos los recién nacidos.

La reacción inmunitaria de mediación celular surge a distintas edades, según las diferentes especies animales. La inmunidad de trasplante aparece antes del

nacimiento en conejos, ovejas, vacas, cerdos y quizá también en el hombre. En las ratas ratones y aves - aparece algún tiempo después del nacimiento. La hipersensibilidad celular a derivados bacterianos y a compuestos químicos sencillos (haptenos) puede inducirse en los recién nacidos, e incluso en prematuros aunque cuantitativamente estas reacciones estén disminuidas.

En definitiva, el hombre adquiere su competencia inmunológica en un periodo de tiempo muy cercano al nacimiento, si bien la plenitud de sus reacciones inmunitarias las alcanza después de un tiempo variable, dependiente de múltiples factores (infecciones infantiles, antígenos alimenticios, inhalados o en contacto con la piel, etc.)

El periodo de madurez inmunológica precede al de la madurez somática, adquiriendo su máxima expresión un poco antes de la pubertad, y a partir de este momento se inicia un lento descenso en la reactividad inmunitaria, que se hace mucho más rápido después de los 50 años (fase de debilidad inmunológica), siendo prácticamente nula después de los 70 años (fase de parálisis inmunitaria senil), donde además existe un fallo de los mecanismos inespecíficos de defensa ante las infecciones (barreras naturales, lisozima, properdina, interferón, sistema hipofiso-suprarrenal, etc.), como consecuencia de la involución senil.

Indudablemente el desarrollo de la reactividad inmunológica va estrechamente ligado al de los órganos linfoides, tanto linfoepiteliales (timo y bolsa de Fabricio de las aves), como linfo-reticulares (ganglios linfáticos, bazo, nódulos linfáticos y médula ósea) (SCHUMACHER) (245); algunos autores (BARGMANN 1968 (11), consideran las amígdalas como órganos - linfoepiteliales y no linfo-reticulares.

Los órganos linfoides han sido divididos en primarios y secundarios (MILLER, 1971) (190), según su origen embriológico, su época de aparición en la evolución ontogénica, la influencia de unos sobre otros, los efectos de su eliminación precoz o tardía, etc.

Los órganos primarios están representados por el timo y la bolsa de Fabricio de las aves o su equivalente en los mamíferos (las experiencias de MCKNEALLY et. al. (1971) (174) (175) sugieren que sea el apéndice en el conejo). El resto de los órganos linfoides (bazo, ganglios linfáticos, etc.) son secundarios - tanto en los mamíferos como en las aves.

El timo es el primer órgano linfoide que aparece en el embrión de los vertebrados: Hacia la sexta semana en el hombre (THIVOLET y MONIER, 1970) (274), de dos esbozos simétricos, comunes con las paratiroides, de la 3ª y quizá también de la 4ª bolsas branquiales - Las células epiteliales derivan del endodermo de las bolsas branquiales y se rodean de una cápsula mesodérmica de origen mesenquimatoso. Rápidamente las células se disponen en forma de red retículo-epitelial, cada vez más rica en células linfoides, al mismo tiempo que se diferencian dos zonas, amniestamente distintas al final del tercer mes:

- a.- Zona cortical, muy rica en linfocitos, con una red epitelial apenas visible.
- b.- Zona medular, de naturaleza epitelial fundamentalmente, en la que existen - grandes células claras, de núcleo pobre en cromatina, secretantes de un mucopolisacárido que algunos identifican con un factor tímico humoral: células mioides (que son células reticulares epiteliales alargadas, como fibrillas de situación transversal en su citoplasma) (BARGMANN, 1968) (11); algunos

macrófagos, de origen mesenquimatoso, que recuerdan a las grandes células claras; y conglomerados de células reticulares epiteliales que constituyen los corpúsculos de HASSALL. Pueden existir algunos linfocitos, pero en muy escaso número.

El origen de los primeros linfocitos tímicos (timocitos) es motivo de controversia. Para algunos autores proceden de las primitivas células epiteliales, mientras que para otros serían de origen mesenquimatoso. Parece ser que el timo es el primer órgano de la economía en el que aparecen linfocitos en un estadio del desarrollo en el que todavía no existe linfopoyesis.

El timo se desarrolla hasta la pubertad, en cuyo momento inicia una involucion lenta y progresiva, sufriendo una transformacion adiposa.

La timectomía neonatal experimental en el ratón, origina una disminución importante de los linfocitos circulantes de la sangre y del conducto torácico, sobre todo de los pequeños linfocitos de vida larga, y de los linfocitos de la zona media del cortex de los ganglios linfáticos (zona paracortical) y de las vainas arteriolares del bazo. La respuesta humoral primaria está disminuida durante los dos o tres primeros meses post-timectomía, pero la respuesta humoral secundaria es normal. Las respuestas de tipo celular están mucho mas deprimidas que las respuestas de tipo humoral.

En un número variable de animales timectomizados se presenta la "enfermedad de desgaste" ("wasting disease") a las tres o cuatro semanas, presentando los animales una notable pérdida de peso, diarrea, somnolencia, lesiones cutáneas, disminución de la hendidura palpebral, etc. y eventualmente mueren de una a tres semanas despues de la presentacion de esta enfermedad.

Los animales que sobreviven presentan reacciones inmunitarias similares a los testigos a partir del tercero o cuarto mes.

Se ha descrito una mayor susceptibilidad de estos animales a algunas infecciones, a los tumores inducidos por virus o carcinógenos químicos (excepto a alguna forma de leucemia), y a la aparición de fenómenos de autoinmunidad.

Las timectomías realizadas en otros animales pueden llevar a resultados similares, pero los raros casos de timectomía neonatal en la especie humana, no -- conduce a un déficit inmunológico notable (THIVOLET y MONIER, 1970) (274).

La timectomía en la edad adulta, no se acompaña de un déficit inmediato de inmunidad, pero existe una disminución lenta y progresiva de los linfocitos -- y muestra una disminución en la respuesta humoral y celular varios meses después de la timectomía. Si se asocia la timectomía con la irradiación subletal, o letal con inyección de médula ósea, o bien con inmunosupresores químicos o suero antilinfocítico, se obtiene una depresión inmediata de la respuesta humoral y celular. En estas condiciones la regeneración del tejido linfoide es nula o está muy retardada, con el consiguiente déficit de reactividad humoral y celular.

Gracias a estas experiencias se ha establecido la influencia del timo en el terreno de la inmunología, la cual es ejercida a través de los pequeños linfocitos de vida larga, cuyas funciones dependen de la presencia del timo. El tejido linfoide de los órganos secundarios, dependientes del timo, está representado por la zona media del cortex de los ganglios linfáticos y por las vainas periarteriolas del bazo.

Diversos tipos de experiencias han podido confirmar una serie de hechos que aclaran los mecanismos a través de los cuales el timo ejerce su papel inmunológico:

- 1.- Cuando se hace un injerto de timo, en un animal timectomizado o normal, los linfocitos (timocitos) del injerto abandonan este y se instalan en las regiones timodependientes de los órganos linfoides secundarios.
- 2.- El injerto de timo se puebla de células procedentes del huesped y se transforman en timocitos después de pasar por el injerto. Estas células que pueblan el timo, son células procedentes de la médula ósea.
- 3.- La mayor parte de los linfocitos producidos por el timo son de vida corta y solamente un 5 % aproximadamente de los linfocitos de origen tímico son de vida larga. La médula ósea no produce mas que linfocitos de vida corta.
- 4.- El drenaje prolongado del conducto torácico elimina la mayoría de los linfocitos de vida larga y las regiones timodependientes de los órganos linfoides secundarios aparecen despobladas de linfocitos, lo mismo que tras la timectomía.
- 5.- Para restablecer las funciones inmunológicas de animales recién nacidos timectomizados o de animales adultos timectomizados e irradiados, es necesario administrar células de ciertos órganos linfoides (ganglios, bazo, timo o conducto torácico: linfocitos de vida larga), o implantar un timo de adulto o recién nacido, bien directamente o en cámara de difusión.

Así pues el timo, a través de los linfocitos de vida larga, ejerce su actividad inmunológica. Para explicar el mecanismo en virtud del cual el timo controla esta clase de linfocitos, existen dos hipótesis:

a.- Teoría celular.- El timo constituye un centro muy activo de linfopoyesis, de tal suerte que abastece al organismo de una gran cantidad de linfocitos de vida corta, y un 5 % aproximadamente de las células producidas por el timo son linfocitos de vida larga. Los precursores de las células formadas en el timo, sobre todo los linfocitos de vida larga, provienen de la médula ósea, penetran en el timo y allí se multiplican y diferencian.

b.- Teoría humoral.- El timo segregaría una sustancia capaz de atravesar las membranas miliporo de las cámaras de difusión que tendría la propiedad de transformar los precursores medulares ("stem cell") en linfocitos de vida larga. Tal factor humoral ha sido designado como "timosina" y sería producido por las grandes células claras epiteliales de la zona medular.

Ambas hipótesis no se excluyen mutuamente, ya que se puede admitir que en el individuo normal, las células medulares se diferencian, bajo la influencia de estos factores humorales en linfocitos de vida larga en el timo; pero en circunstancias experimentales (timo en cámara de difusión) la acción de la "timosina" puede ejercerse a distancia.

La bolsa de Fabricio de las aves es otro órgano linfoepitelial primario. Se origina en la unión del endodermo y del ectodermo en la región de la cloaca. Aparece en el embrión después que el timo. Sus funciones eran desconocidas y fueron descubiertas de modo accidental, al comprobar que los pollos bursectomizados inyectados con antígeno O de *Salmonella typhimurium*

no producian anticuerpos (219). ^E Se han realizado experiencias similares a las utilizadas para estudiar la función inmunológica del timo y las conclusiones obtenidas han sido las siguientes:

1.- La bolsa de Fabricio no parece intervenir mediante sustancias humorales como se pensaba al principio al implantar en animales bursectomizados, una bolsa en cámara miliporo de difusión. La estimulación de la inmunidad humoral era debida a endotoxinas procedentes de la bolsa de Fabricio alojada en la cámara de difusión.-

^a
2.- Las células que pueblan la bolsa de Fabricio provienen de la médula ósea y se diferencian después en el retículo de la bursa.

3.- La bolsa de Fabricio es la productora de las células de origen de la progenie plasmocitaria, de los cordones medulares, de los linfocitos de los centros geminales de los folículos linfoides y de los linfocitos de las áreas corticales (regiones bursa-dependientes).

4.- Los animales bursectomizados conservan los fenómenos de inmunidad celular, pero muestran una reactividad humoral deprimida, siempre que la bursectomía se haya realizado antes de la 5ª semana de la salida del cascarón, ya que si se realiza después de este tiempo, prácticamente no existen alteraciones en la reactividad humoral.

En los mamíferos que no poseen bolsa de Fabricio, los tejidos bursa-equivalentes responsables de las respuestas humorales han sido localizados en diferentes niveles (apéndice (Mc KNEALLY, 1971) (274) (175), amígdalas, placas de PEYER del intestino).

Estos hechos refuerzan la idea de que la población celular inmunocompetente, encargada de las respuestas humorales y celulares, aunque morfológicamente es uniforme, funcional y ontogénicamente es muy diferente: El tejido linfoide timo-dependiente se encarga de la inmunidad celular, mientras que el tejido linfoide bursa-dependiente en las aves o bursa-equivalente en los mamíferos, es el responsable de la síntesis de anticuerpos. (FREY-WERTTSTEIN y GRADDOCK, 1970) (89), (GONZALEZ SANTANDER, 1970) (98).

II.- FILOGENIA.- La capacidad de reacciones inmunológicas antes estímulos antigénicos es patrimonio exclusivo de los vertebrados. Ante un agente estimulante, los vertebrados elaboran una respuesta específica, que casi siempre consiste en la síntesis de una proteína característica y en la proliferación de un grupo de células efectoras de la respuesta. Si el mismo agente estimulante vuelve a actuar sobre el mismo animal, la respuesta específica es más vigorosa.

En los invertebrados pueden existir mecanismos biológicos de defensa que recuerden a una respuesta inmune, aunque en sus líquidos orgánicos no se han descubierto inmunoglobulinas (GOOD y PAPERMASTER, 1964) (99). Algunos tipos de insectos son capaces de defenderse de ciertas clases de infecciones y en la hemolinfa de las orugas se han descubierto aglutininas inespecíficas que no guardan ninguna relación con la naturaleza del antígeno ni con el número de estímulos antigénicos. La inflamación en los invertebrados está basada en los mecanismos de fagocitosis y digestión intracelular, y en cuanto a la inmunidad de trasplante se refiere, son incapaces

ces de distinguir entre tejidos autólogos y homólogos, e incluso aceptan hetero o xenotrasplantes, si bien en los anélidos los injertos heterólogos prenden peor que los homólogos. Los invertebrados no poseen memoria biológica y carecen de tejido linfóide.

En el *Amphioxus*, animal cordado del subtipo de los cefalocordios, no aparecen órganos linfoides y no presenta reacciones inmunológicas, aunque tiene en su sangre unas células semejantes a los pequeños linfocitos de los mamíferos. Carecen de timo y de células plasmáticas.

En la lamprea, pez ciclostome, aparece un timo rudimentario y presenta un bazo situado en la región anterior del intestino. Posee linfocitos en su sangre y en la médula, que proliferan ante estímulos antigénicos? Carece de células plasmáticas.

En los peces elasmobranquios, aparece un timo bien desarrollado y un bazo en el que es posible distinguir pulpa roja y pulpa blanca y además tienen tejido linfóide en la lámina propia del intestino y en el parénquima renal. Las rayas y los escualos presentan en el bazo células pironinófilas, semejantes a las precursoras de las células plasmáticas, e incluso en los escualos pueden encontrarse células plasmáticas maduras.

En los peces teleosteos existe timo, bazo bien desarrollado y tejido linfóide en el intestino. Tienen células plasmáticas pero no son muy abundantes.

Los anfibios presentan un timo y un bazo bien desarrollados e incluso en alguna especie de sapo se han descrito ganglios linfáticos ("*bufo marinus*"), que es

una característica de los mamíferos. Los anfibios pueden presentar una amígdala sublingual bien desarrollada. Tienen células plasmáticas abundantes.

Los reptiles presentan un desarrollo del tejido linfóide similar al de los anfibios pero tienen amígdalas bien constituidas.

En las aves, aparece la bolsa de Fabricio como órgano linfóide primario, cuya presencia es necesaria para que las reacciones inmunológicas humorales se desarrollen con normalidad. De todas formas, en los embriones de aves, primero aparece el timo y unos días después la bolsa de Fabricio. En líneas generales el tejido linfóide está disperso por el organismo de las aves, pero en algunas especies pueden aparecer rudimentos de ganglios linfáticos, por acúmulo de linfocitos en torno a un vaso linfático, estando rodeado el conjunto por tejido conectivo.

Los mamíferos carecen de bolsa de Fabricio y se duda en la localización del tejido linfóide encargado de realizar las funciones encomendadas a la bursa (tejido bursa-equivalente). En ellos el tejido linfóide alcanza su máximo desarrollo y los ganglios linfáticos, como tales, hacen su aparición.

La inmunidad humoral, caracterizada por la síntesis de anticuerpos, comienza, desde el punto de vista filogenético, en aquellos animales que en la escala zoológica se colocan por encima del "pez bruja" de California o *Eptatretus Stoutii*; es un ciclostomo que representa el vertebrado más primitivo con vida, que por carecer de tejido linfóide no puede desarrollar respuestas inmunológicas. La capacidad de producir anticuerpos parece iniciarse en la lamprea de mar y se identifica más fácilmente en peces más superiores, pero solo tiene lugar en determinadas condiciones de temperatura. Los anticuerpos de los anfibios y reptiles tienen menor especificidad

que los de las aves y mamíferos.

Los fenómenos de hipersensibilidad celular a algunos antígenos, aparecen entre los peces holósteos, y concretamente en el "pez perro" del Misisipi -- (Amia calva), aunque ~~este~~ fenómeno solo es claramente demostrable en las aves y en los mamíferos.

La inmunidad de trasplante (capacidad de rechazar homoinjertos), aparece ya en los peces que aceptan los autoinjertos y rechazan los aloinjertos, sobre todo si se encuentran en agua caliente. Los animales superiores solo se diferencian en el tiempo que tarda en producirse el rechazo, el cual es muy variable incluso dentro de una misma especie, dependiendo de la similitud o disparidad genética entre donante y receptor del aloinjerto.

CAPITULO IX

BOSQUEJO HISTORICO DE LOS TRASPLANTES DE

ORGANOS Y TEJIDOS

El trasplante de tejidos y órganos de un hombre a otro, e incluso de animales inferiores al hombre, e constituye un viejo sueño de los cirujanos. Aunque el tema que nos ocupa ha sufrido un espectacular desarrollo en los últimos años, el entusiasmo por el trasplante de órganos constituye realmente un renacimiento, ya que esta idea ha ocupado siempre un lugar privilegiado en el pensamiento de los hombres. En las culturas mas antiguas, tales como la egipcia, persa, griega, etc. el hombre con el deseo de proteger y ayudar a sus semejantes, o con ánimo de atemorizarles en otros casos, crea quimeras, monstruos fabulosos formados por combinación de distintos animales. La Mitología está llena de leyendas que abundan en este sentido. (111).

En el hombre la idea de reemplazar tejido enfermo por tejido sano donado por otra persona data de 800 años antes de Jesucristo (NUBOER, 1969) (212): Se piensa en el trasplante de nariz para reparar desperfectos de este órgano como consecuencia de los castigos propios de la época. Desde entonces hasta nuestros días han existido muchas leyendas.

En Florencia existe una miniatura, atribuida a MANTEGNA (1.431- 1.506) (73) en la que están representados San Cosme y San Damian tras haber trasplantado un miembro inferior de un negro, que había muerto, aun blanco al que le había sido amputado el miembro por un tumor y, según la leyenda, la intervención fue seguida de éxito.

También de la Edad Media proceden algunas leyendas referidas a trasplantes (242).

Hace 400 años Ambrosio PARE (1510-1592) (61), decía que suplir los defectos de la Naturaleza era una de las obligaciones del cirujano.

En el siglo XVIII, JOHN HUNTER (1728-1793), implantó dientes humanos a otros hombres (242) sin que exista información sobre resultados duraderos, y realizó estudios experimentales con injertos de crestas y espolones de gallo (81), implantando un diente en una cresta de gallo y los testículos de un gallo a una gallina (242), sin que se produjeran modificaciones biológicas. Su trabajo como cirujano fue tan importante, que sus restos descansan en la Abadía de WESTMINSTER con la inscripción "The Founder of Scientific Surgery" (81).

La época científica en el trasplante de órganos comienza en el siglo XX. En 1902, ULLMAN (285), describe un autotrasplante renal en un perro, colocando la víscera en el cuello. El mismo año, CARREL (41) publica sus estudios sobre auto-trasplante renal y anastomosis vasculares. Ambos autores, con sus comunicaciones demostraron la posibilidad de realizar anastomosis vasculares. CARREL prosiguió sus estudios en Chicago, bajo la influencia de GUTHRIE, perfeccionando sus técnicas por cuyo motivo le fue concedido el Premio Nobel en 1912. Al recibir tal premio dijo: "... desde el punto de vista técnico, el trasplante de órganos ha sido solucionado". (212).

En 1894, MORAU en el Laboratorio de Histología de la Facultad de Medicina de París, encontró una cepa de ratones portadora de cáncer de mama y consiguió una serie de pases experimentales con este tumor.

En 1903, JENSEN trasplantó con éxito tumores espontáneos en ratones de cepas consanguíneas, pero tales tumores no eran aceptados por ratones de otras cepas, y observó que un segundo trasplante del mismo tumor era violentamente expulsado por el receptor, interpretando este hecho como una reacción especial del organismo frente al tumor.

En 1907 BORREL, trasplantando tumores experimentalmente comprobó que los éxitos eran mas frecuentes cuando los injertos se hacían entre hermanos, con lo que se empieza a entrever la importancia de la genética en este campo.

En 1914, LITTLE (156) llega a la conclusión de que la aceptación del tumor por parte del receptor, depende de que ambos tengan un gran número de "factores de susceptibilidad" idénticos. Tales factores estarían determinados por genes co-dominantes independiente. Se establecen así las bases genéticas del trasplante de tumores.

En 1938, GERRER (100), en el Bar Harbor Laboratory de Londres, reformuló la teoría genética del trasplante en términos inmunológicos, describiendo los "iso-anticuerpos" como reacción del organismo a los "iso-antígenos", genéticamente determinados, que se encuentran en los tejidos normales y tumorales. Posteriormente este mismo autor con LYMAN y SNELL, describió el papel del locus H-2 en la tolerancia de injertos tumorales en el ratón.

Un paso verdaderamente importante en el estudio de hemoinjertos de tejidos normales, fue el estudio de GIBSON y MEDAWAR (96) al observar la suerte de autoinjertos y aloinjertos de piel en un enfermo quemado hospitalizado en la "Glasgow Royal Infirmary", en 1943. Tras esta observación inicial, MEDAWAR (1944) (176) realizó estudios experimentales en conejos, que ya son

clásicos en la inmunidad de trasplante, estableciendo la fisiopatología de la reacción de homoinjerto y su naturaleza inmunológica.

Los años 1950 representan una nueva era en la inmunología de trasplante con el descubrimiento de una serie de procedimientos para debilitar o anular la reacción de homoinjerto (BILLINGHAN, 1970) (26). DEMPSTER, LENNOX y BOAG (1950) (69), descubren la prolongación de homoinjertos cutáneos en conejos mediante la irradiación total subletal, y al año siguiente se descubre un efecto similar con la utilización de cortisona (BILLINGHAN, KROHN y MEDAWAR, 1951) (24).

En 1953, es descubierto el principio de la tolerancia inmunológica por BILLINGHAN, BRENT y MEDAWAR (25), basándose en el trabajo original de OWEN sobre el cual se han realizado después múltiples estudios.

En el mismo año (FOLEY) (86), son descubiertos los antígenos tumorales específicos, que aportan luz sobre la oncogénesis, señalan la existencia de mecanismos normales de homeostasis antitumoral y quizá constituyan la base para una ansiada inmunoterapia antitumoral, que es hoy por hoy, una esperanza para el futuro y no una realidad para el presente. (ALEXANDER, 1971). (3).

En 1954, MITCHISON demostró un hecho interesantísimo: La posibilidad de transferir la sensibilidad a homoinjertos de tumores sólidos por medio de células vivas procedentes de los ganglios linfáticos regionales de ratones que habían rechazado previamente homoinjertos del mismo tumor sólido. Tal efecto no es posible obtenerlo por medio del suero.

En 1956, BILLINGHAN (26) demostró que puede conseguirse un estado de sensibilización contra homoinjertos de piel de ratones, mediante células espléndidas desinte-

gradas apropiadamente, o "soluciones" preparadas de las mismas. SE hace patente la posibilidad de obtener una inmunidad de trasplante mediante extractos celulares.

Las reacciones injerto-contra-huesped (G.V.H.R.) -- descubiertas en 1957 por SIMONSEN, han abierto una nueva dimension en la inmunología de trasplantes. El resultado de estas reacciones es, frecuentemente, fatal para el huesped y se conocen en la literatura de trasplantes con nombres diversos, según las circunstancias en que aparezcan (Síndrome de desgaste o desmedro, equivalente al "Wasting Syndrome"; enfermedad de trasplante; enfermedad homóloga; enfermedad de los enanos ("runt disease"); enfermedad secundaria).

En 1958, MEDAWAR, esbozó el importante concepto de "sensibilización periférica" del linfocito por interacción del mismo con los antígenos a nivel del injerto o trasplante. Este hecho ha sido demostrado después por otros autores (ELVES, 1971) (79).

En el mismo año, BRENT, BROWN y MEDAWAR demostraron que la inmunidad de trasplante es una forma de hipersensibilidad retardada, observando que en cobayas -- sensibilizados mediante un homoinjerto cutáneo, la inoculación intradérmica de células vivas procedentes del donante o de extractos antigénicos, origina una reacción inflamatoria retardada, similar a la reacción tuberculínica clásica. Tal reacción puede servir para el ensayo de antígenos de histocompatibilidad.

SCHWARTZ, STACK, y DAMESHEK, en 1958, descubren el poder inmunosupresor de la 6-mercaptopurina, al observar en conejos, que la administración de esta droga -- bloqueaba su capacidad para producir anticuerpos contra la albúmina sérica bovina. Es el comienzo de la inmunosupresión mediante agentes químicos.

En 1962, CALNE, ALEXANDRE y MURRAY (37), comunican el retraso del rechazo de homoinjertos renales en perros mediante el tratamiento de los mismos con drogas inmunosupresoras.

ROSENAU, en 1963, describe la actividad "in vitro" de linfocitos sensibilizados, capaces de destruir las células blanco en ausencia del complemento y de anticuerpos humorales, por contacto íntimo entre ambos tipos de células ("aglutinación por contacto").

BAIN (1964) (10) y colaboradores, estudiaron el cultivo mixto de leucocitos procedentes de individuos no emparentados, observando al cabo de unos días, la aparición de células blásticas que incorporan timidina tritiada y se dividen. Este hecho además de sentar las bases de un importante test de histocompatibilidad, ha constituido un procedimiento excelente para el estudio de la citoquinética de la inmunidad de trasplante.

STARZL (1964) (263), recoge en una monografía su experiencia sobre trasplante renal y aporta las primeras series largas sobre el trasplante de este órgano utilizando drogas.

La idea de utilizar un suero antilinfocítico heterólogo preocupó a diversos investigadores a lo largo de todo el siglo, pero han sido realmente los trabajos de WOODRUFF y ANDERSON, en 1963 (298) y 1964 (299), los que llevaron la atención hacia este producto, como agente biológico de inmunosupresión, y su utilización posterior en la clínica humana. En los últimos años el suero antilinfocítico ha sido purificado y se han obtenido globulinas antilinfocíticas, cuya aplicación clínica y experimental aporta los mismos resultados y tiene

menos inconvenientes que en el suero completo. Recientemente ha sido utilizado por MONACO (1971) (196) como medio para conseguir tolerancia inmunológica - específica y hay un renovado interés en su empleo para obtener la supervivencia experimental de heteroinjertos. (BILLINGHAN, 1970) (26) (LANCE y MEDAWAR, 1968) (143).

En 1964, MCGREGOR, y GOWANS (173), estudiaron los - efectos del drenaje del conducto torácico en ratas, como procedimiento para conseguir una deplección de linfocitos y valorar la capacidad del rechazo de homoinjertos cutáneos.

El papel del timo en la inmunidad ha sido muy bien estudiado por MILLER (186) (187) (188), así como los efectos de la timectomía experimental (189).

Los hechos reseñados son a nuestro modo de ver los - jalones históricos que marcan hitos en el desarrollo de la cirugía de trasplante. A partir de estos hechos fundamentales, las experiencias se han multiplicado y resulta imposible recoger datos generales sobre el tema.

Se puede resumir la historia de los trasplantes de órganos y tejidos en tres grandes épocas:

- 1.- Época empírica, que comprende desde las culturas mas antiguas - hasta el siglo XX.
- 2.- Época racional, que se extiende desde los primeros trasplantes realizados por CARREL y ULLMANN hasta el descubrimiento de la naturaleza inmunológica del rechazo de los homoinjertos.

3.- Epoca científica o actual, que comprende desde la Segunda Guerra Mundial hasta nuestros días, en la que junto a una mayor perfección de la técnica quirúrgica, se conoce mejor el mecanismo del rechazo y se estudia y proponen procedimientos muy diversos para disminuir o anular tal fenómeno, se seleccionan los donantes desde que DAUSSET (1958) descubriera el primer antígeno leucocitario (Mac), se perfeccionan los procedimientos para la conservación de órganos, etc. No obstante, en el momento actual, existen muchas lagunas en nuestros conocimientos sobre inmunología en general, y sobre inmunidad de trasplante en particular, lo que justifica la constante investigación en este campo y explica los importantes progresos conseguidos en los últimos años.

Aunque la atención por los trasplantes de órganos en el hombre se incrementó desde el trasplante cardíaco humano realizado por BARNARD (13) en Diciembre de 1967, creemos justo recordar los nombres de otros muchos cirujanos o investigadores que contribuyeron con su esfuerzo al progreso de los mismos.

En el campo de los trasplantes de médula ósea es obligado citar el nombre de MATHE, quien desde 1956 viene trabajando en este campo (168). Entre sus posibles aplicaciones, dos de ellas tienen especial interés: En el tratamiento de sujetos accidentalmente irradiados (MATHE et al., 1959) (166) y en el tratamiento de las leucemias (MATHE et al. 1971) (169). Los estudios de MATHE y colaboradores constituyen un auténtico hito en la investigación inmunológica mundial.

En los trasplantes de hígado, los trabajos experimentales comienzan con WELCH en 1955, al realizar el primer trasplante heterotópico de hígado en perros. MOORE en 1959) (198) y STARZL (1960) (261) realizan los primeros trasplantes ortotópicos en perros. Mas recientemente se han realizado los primeros trasplantes ortotópicos en cerdos (CALNE 1967 38

(55), que son bien tolerados y además un aloinjerto hepático de cerdo impide el rechazo de un aloinjerto renal procedente del mismo donante y retrasa el rechazo de piel del mismo donante (CALNE, 1970) (40).

LORTAT-JACOB, en 1955 (159), VAN der HEYDE, en 1967 (287) y MITO, en el mismo año (194), realizaron trasplantes del lóbulo izquierdo del hígado y MIKAELOFF, en 1966 (183), del lóbulo derecho. LEE y EDGINTON (145) en 1966, han conseguido el trasplante de hígado en ratas con éxito y MIKAELOFF (184) (185) ha obtenido muy buenos resultados con el trasplante parcial heterotópico.

En el hombre el trasplante de hígado era un desafío quirúrgico (CALNE, 1970) (40), que fué emprendido por STARZL en 1963 (262) y MOORE en 1964 (199). La técnica del trasplante ortotópico ha sido difundida por STARZL et al. (1968) (265) y es la más utilizada.

Los trasplantes de páncreas tienen una historia que se remonta a finales de siglo pasado (HEDON, 1892) (122) (SSOBLEW, 1902) (260) y que ha sido muy bien recogida por BROOKS y GIFFORD, hasta 1959 (32). Se comenzó realizando implantaciones de tejido pancreático, sin realizar anastomosis vasculares: Ya en 1926 IVY y FARREL realizaron autoimplantes del páncreas de perro en el tejido subcutáneo abdominal, seccionando los vasos de la porción trasplantada a las 3-4 semanas, con lo que conseguían la supervivencia de la porción trasplantada gracias a la circulación procedente de los tejidos vecinos; en 1935 SELLE (247) cultivó fragmentos de páncreas de fetos de perro y los implantó subcutáneamente en perros pancreatectomizados, sin que obtuviese evidencia de una función activa. Más recientemente REEMTSMA et al (1963) (228) han implantado, subcutáneamente, tejidos pancreáticos homólogo en perros pancreatectomizados, sin obtener modificaciones en glucemia de los receptores. También se han hecho algunos intentos de implan

tes pancreáticos, en el hombre diabético, en el cuádriceps o en el tejido celular subcutáneo, (BROOKS y GIFFORD, 1959) (32), sin obtener mas que una pequeña disminución temporal en las dosis de insulina a administrar a estos enfermos.

El trasplante de páncreas con anastomosis vascular es el mejor método para obtener una función inmediata del injerto (LILLEHEI e IDEZUKI, 1969) (154), (1970) (155). Los primeros trabajos experimentales se deben a GAYET y GUILLERMIE, en 1927, y a HOUSSAY en 1929 (124), empleando anastomosis vasculares sobre cánulas. Posteriormente se desarrollaron diversas técnicas para el trasplante heterotópico, y en 1967, LARGIADER (144) comunica el primer homotrasplante ortotópico con éxito en el perro. Los problemas técnicos de conservación y supervivencia de los injertos han sido muy bien estudiados por IDEZUKI et al. (130) (131).

El primer homotrasplante humano de páncreas se realizó el 17 de Diciembre de 1966 por KELLY et al. (140), trasplantando al mismo tiempo un riñón, en un paciente con diabetes mellitus terminal complicada con una severa nefropatía diabética. Ambos órganos, páncreas y riñón, procedían del mismo cadáver. Posteriormente han sido realizados algunos mas (LILLEHEI et al., 1970) (155). Muy recientemente UCHIDA et al., 1971 (283), han descrito una nueva técnica de autotrasplante heterotópico pancreático-duodenal en perros.

En los trasplantes de pulmón, los estudios iniciales se realizaron con técnicas de reimplantación y de homotrasplante experimental (HARDY) (119), si bien la reimplantación es mas difícil que el homotrasplante (LOGAN) (157), por la friabilidad de las estructuras hiliares y la menor longitud de los vasos para las anastomosis. El primer trasplante de pulmón fue realizado por GUTHRIE, en 1907 (112) trasplantando los pulmones de un gato recién nacido a los vasos del cuello de un gato adulto. STAUDACHER (1950), publicó sus resultados sobre reimplantaciones y homotrasplantes de lóbulos pulmonares en el perro.

utilizando tubos de vitalio para las anastomosis. METRAS en el mismo año, describió una nueva técnica de trasplante pulmonar, anastomosando las venas pulmonares a la aurícula izquierda. En 1951 LANARI, comunicó sus experiencias sobre el homotrasplante de lóbulos pulmonares en perros. La primera supervivencia prolongada de un perro con reimplantación del pulmón derecho, fue comunicada por JUVENELLE en 1951. Posteriormente se hicieron muchos estudios de trasplantes pulmonares experimentales, que han permitido avanzar notoriamente en este campo.

En la clínica humana, la reimplantación pulmonar tiene escasas indicaciones. MESHALKIN (1964) (182), ha surgido la reimplantación pulmonar como un procedimiento del tratamiento quirúrgico del asma bronquial severo o intratable por los procedimientos convencionales. IVASCU (1969), tras una neumonectomía, por cáncer bronquial, reimplantó un lóbulo con éxito. El primer trasplante en el hombre fue realizado por HARDY, en 1965 (118) y poco tiempo después por MAGOVERN y YATES (1964). Ambos trasplantaron el pulmón izquierdo de un cadáver. SHINOI (1966) (253) y MORRIS y GAGO (1967) (202) trasplantaron el lóbulo inferior izquierdo procedente de un donante vivo. NEVILLE y FABER (1965), realizaron el primer trasplante de pulmón derecho. El caso de mayor supervivencia hasta el momento actual, ha sido el comunicado por DEROM (70), con 10 meses, realizado en Noviembre de 1968).

En cuanto a los trasplantes cardíacos, el primer intento fue realizado por CARREL y GUTHRIE, en 1905, en perros, colocando un segundo corazón conectado a los vasos del cuello. En 1933, MANN, PRISTLEY, MARKOWITZ y YATER (163), realizaron experiencias similares. En 1951, DEMIKHOV, (67), realizó el primer trasplante en un perro y comprobó que el animal podía vivir con el corazón trasplantado. Sin embargo los éxitos comienzan a partir de la circula

ción extracorpórea en estas experiencias (51) y el desarrollo de una técnica apropiada por LOWER y SHUMAY (1960) (160) (161), que con ligeras variantes, ha sido la utilizada en los trasplantes humanos. El 3 de Diciembre de 1967, BARNARD (12), realiza el primer trasplante de corazón en el hombre. Inmediatamente después, comienzan a realizarse trasplantes de corazón en todo el mundo y en Diciembre de 1969 ya se habían realizado 100 trasplantes, correspondiendo a COOLEY (52) el mayor número de corazones trasplantados.

En cuanto a los trasplantes renales, existe en la actualidad una experiencia práctica suficiente y ha transcurrido bastante tiempo para valorar esta modalidad terapéutica en el tratamiento de enfermos que padecen un fallo renal en su estadio terminal (SHA (SHACKMAN, 1970) (250). Los verdaderos pioneros en el campo de los trasplantes renales son HAMBURGER, MERRILL y HUME (DE GRAEFF, 1969) (66).

En 1953, DEMPSTER y SIMMONSEN, realizaron homotrasplantes renales en perros, utilizando los procedimientos que empleaba CARREL (41) a principios de siglo.

En 1953, MICHON, comunica el trasplante de un riñón procedente de la madre del paciente, con tolerancia del mismo durante más de tres semanas.

En 1956 MERRILL et al. (179), realizan con éxito el primer homotrasplante renal, entre gemelos idénticos, si bien se habían hecho otros intentos por este mismo autor y HUME, (1952) (127) y por HAMBURGER (1950).

En 1959, casi simultáneamente, MERRILL (180) en Boston y HAMBURGER (116) en París, realizaron con éxito un

homotrasplante renal, siendo el donante un gemelo no idéntico del receptor. En 1962, HAMBURGER realizó con éxito el primer homotrasplante renal entre no gemelos (117). Tales resultados favorables fueron el fruto de pacientes tareas de investigación sobre selección de donantes y técnicas de inmunosupresión.

Los problemas que plantea el trasplante renal con doble arteria, han sido recientemente analizados por SIMMONS et al. (255) (1971), así como el tratamiento de la hipertensión reno-vascular mediante el autotrasplante renal (CLUNE, 1971) (47).

Igualmente el problema de las sepsis e infecciones en los trasplantes renales, ha sido revisado muy recientemente por BURGOS-CALDERON et al. (36) y Mc.DONALD et al (172). HUME (128), en 1969, comunica un magnífico estudio del rechazo del riñón trasplantado.

Desde finales del siglo pasado se han intentado los implantes de tejidos endocrinos y posteriormente muchos investigadores se han interesado en probar la eficacia de los implantes intramusculares, subcutáneos, intraperitoneales, etc., para obviar los problemas de trasplantes de órganos endocrinos por anastomosis vascular directa. Sin embargo los resultados obtenidos han sido muy variables y pobres, por lo que el interés por este tipo de intervenciones ha disminuido considerablemente. Recientemente DARDICK et al (1971) (62) han comprobado la viabilidad de implantes autógenos de tiroides en el bazo y para obviar la degradación de las hormonas tiroideas por el hígado, realizan una anastomosis venosa esplenocava. Estos mismos autores han comprobado que en caso de aloimplantes, el rechazo inmunológico es la regla. Por otra parte, dado que en el caso del tejido endocrino existen en el mercado preparados hormonales para realizar una terapéutica sustitutiva, el interés por este tipo de intervenciones ha decrecido.

Los trasplantes de córnea ocupan una posición privilegiada en el campo de los trasplantes de órganos ya que, aproximadamente el 75 % de los injertos corneales, permanecen transparentes y es posible restablecer la visión (CASEY, 1970) (43) e incluso cuando la córnea del huesped es avascular y está sana, el porcentaje de éxito se eleva al 95 % (AINSLIE) (1970) (1). Desde el punto de vista histórico, la primera queratoplastia con éxito fue realizada en una gacela por BIGGER en 1835. Durante los años siguientes hasta los comienzos de este siglo, se utilizaron córneas de animales para el injerto humano, obteniéndose algunos éxitos. El primer homotrasplante corneal humano fue realizado por ZIRM en 1906. Durante la tercera década de este siglo, THOMAS, en Inglaterra, introdujo el injerto corneal y difundió el procedimiento. En los años que precedieron a la Segunda Guerra Mundial, se realizaron muchos trasplantes de córnea, obteniéndose cierto número de éxitos (AINSLIE, 1970). Durante los últimos veinte años, este procedimiento se ha generalizado como técnica quirúrgica oftalmológica, en el tratamiento de una gran variedad de afecciones corneales (indicaciones ópticas, terapéutica y eventualmente cosméticas) (CASEY) (43). Se utilizan fundamentalmente dos procedimientos: La queratoplastia laminar y la queratoplastia penetrante, a los que se ha unido un tercer procedimiento difundido por BARRAQUER, denominado queratoplastia refractiva, que es una variante de una queratoplastia laminar autóloga, aunque en determinados casos es necesario realizar un homotrasplante laminar de la córnea. Habitualmente no es necesario el empleo sistemático de inmunodepresores en este tipo de trasplantes, ni la selección de donantes. Únicamente en casos en que el diámetro del trasplante sea superior a los 8 mm. o en los casos en que falló un injerto previo, realizando con una técnica correcta, debe prestarse atención a la tipificación de tejidos. El peligro de vascularización de la córnea puede controlarse mediante el empleo de esteroides, localmente, en

el postoperatorio inmediato, y en aquellos casos en que aparece la vascularización de deben utilizar por vía general. Si incluso, a pesar del empleo de estos medicamentos aparece la vascularización corneal, CASTROVIEJO, ha utilizado con éxito la irradiación beta, con estroncio 90.

El trasplante de cabeza se ha realizado experimentalmente, pero su importancia en relación al trasplante humano es de escaso significado con el sentido funcional ya que el sistema nervioso central del hombre adulto no tiene capacidad de regeneración, y por tanto no puede recibir estímulos aferentes ni enviar respuestas eferentes. DEMIKOHV (68), ha conseguido la anastomosis vascular prolongada de la porción superior del cuerpo de un perro, incluyendo la cabeza. WHITW (294) (1971) ha conseguido el trasplante de la cabeza al cuerpo aislado de un receptor, utilizando pequeños monos rehsus, con persistencia de una función cerebral normal. Al parecer CARREL y GUTHRIE ya en 1907-1908, habían intentado el trasplante de la mitad superior del cuerpo en perros.

El precursor de los trasplantes de intestino fue CARREL, en 1908, realizando trasplantes de segmentos intestinales en el cuello de perros. BARAC y CARLIER (1957), LILLEHEI et al (1959) (151), LILLEHEI et al. (1963) (152), PRESTON et al. (1966) (226) y HARDY et al. (1968) (120), renuevan el interés por los trasplantes de intestino y realizan homoinjertos experimentales en el cuello de perros. Homotrasplantes humanos han sido realizados por LILLEHEI en 1967 en un caso de infarto intestinal, por OKUNORA, en el mismo año, en un enfermo con trombosis aórtica aguda y por OLIVIER en 1969, en un paciente con síndrome de GARDNER. Recientemente GRENIER (1970) (108) y MONCHIK y RUSSELL (1971) (197), han realizado un estudio experimental muy completo sobre trasplante intestinal en el perro y en la rata respectivamente, consiguiendo supervivencias muy notables del trasplante.

Las vicisitudes históricas sufridas por los trasplantes de piel, las reservamos para el capítulo "Inmunidad de trasplante" donde ~~será~~ será analizado el mecanismo del "rechazo", ya que han sido los hominjertos cutáneos uno de los métodos mas empleados en su estudio.

Indudablemente el trasplante de órganos representa una terapéutica esperanzadora en el tratamiento del hombre enfermo. En los últimos años se han conseguido notables progresos gracias a la selección de donantes mediante la tipificación de tejidos (VAN ROOD) (1963) (289); SHULMAN et al., (1964) (254); CEPELLINI et al (1964) (44); TERASAKI et al. (1966) (273), etc.; a las diversas técnicas de inmunosupresión y a la conservación de órganos (LILLEHEI, 1969) (153), pero no cabe duda que aún es mucho el camino por recorrer.

CHAPTER II

INMUNIDAD DE TRASPLANTE

El éxito de un trasplante depende de las relaciones genéticas existentes entre donante y receptor. Estas relaciones permiten establecer una serie de definiciones. (SNELL, 1964) (256):

- Autoinjerto o trasplante autólogo: El injerto se obtiene y se coloca sobre el mismo individuo, es decir es un trasplante en el que el receptor es también donante.
- Isoinjerto o trasplante isogénico: Cuando donante y receptor son genéticamente idénticos en antígenos de histocompatibilidad.
- Aloinjerto o trasplante alogénico: Es el trasplante entre individuos genéticamente diferentes, pero pertenecientes a una misma especie animal. Son los denominados hasta SNELL (256), homoinjertos o trasplantes homólogos.
- Xenoinjertos o trasplante xenogénicos: Son los trasplantes entre donantes y receptores pertenecientes a especies diferentes. Hasta SNELL (256), fueron denominados heteroinjertos o trasplantes heterólogos.

Las definiciones propuestas por SNELL, han sido universalmente aceptadas y se recogen en todas las publicaciones sobre trasplantes (NORMAN, 1967) (210) (PEREZ TAMAYO et al., 1968) (219).

De acuerdo con la función que se espere del trasplante, se clasifican en:

-Trasplante vital (219) o trasplante homovital o alovital (210): El órgano o tejido trasplantado continua llevando a cabo todas sus funciones fisiológicas después del trasplante. Tal sucede con el trasplante de riñón, corazón, etc.

-Trasplante inerte (219) o trasplante homeostático o alostático (210): El tejido trasplantado presta su organización estructural, pero no su dinámica, mientras los tejidos del receptor se regeneran y le sustituyen. Es el caso de los injertos óseos por ejemplo.

Teniendo en cuenta el lugar de implantación del injerto en el receptor, los trasplantes se clasifican en:

- Trasplantes ortotópicos: Ocupan el mismo lugar que el órgano a que sustituyen.

- Trasplantes heterotópicos: El órgano o tejido trasplantado se coloca en un lugar diferente al de su implantación anatómica normal.

Considerando las edades relativas del donante y el receptor, los trasplantes reciben la denominación de isocronicos, cuando ambos individuos tienen la misma edad, mientras que cuando el donante y el receptor tienen edades diferentes, se habla de trasplantes heterocrónicos.

Con aplicación casi exclusiva a los autoinjertos y según las relaciones del injerto con su lugar de procedencia, se denominan injertos libres a

aquellos en que el injerto se separa completamente del área dadora, mientras que como injertos pediculados o en colgajo, se denominan aquellos que conservan conexiones vasculares con el área donante en tanto el injerto se vasculariza a expensas de los vasos del área receptora.

Por lo que respecta a los injertos cutáneos, que son los que nosotros hemos manejado, estos pueden clasificarse de la siguiente manera:

1.- Injertos insulares, que admiten dos variantes:

a.- Tipo REVERDIN: comprende la epidermis y las capas superficiales del dermis (dermis capilar).

b.- Tipo DAVIS: comprende todo el espesor de la piel.

2.- Injertos laminares ("Split grafts"): Se trata de una lámina de piel de espesor variable. De acuerdo con su espesor, estos injertos se clasifican en:

a.- Delgados o finos (tipo THIERSCH): Comprenden la epidermis y dermis superficial, que representa aproximadamente un tercio del espesor de la piel.

b.- Medianos o de espesor intermedio (tipo BLAIR y BROWN): Comprenden aproximadamente la mitad del espesor de la piel (epidermis, dermis papilar y una pequeña parte del dermis reticular).

c.- Gruesos (tipo PADGETT): Comprenden las tres cuartas partes del espesor de la piel (epidermis, dermis papilar y gran parte del dermis profundo).

d.- Piel total (tipo WOLFE-KRAUSE): Comprende todo el espesor de la piel. Son los que hemos utilizado en el presente trabajo experimental.

Los diferentes tipos de injertos expuestos, tanto insulares como laminares, son injertos dermoepidérmicos, pues comprenden la epidermis y una porción mas o menos gruesa del dermis.

3.- Injertos dérmicos.- Son injertos totales de los que se separa la epidermis.

En líneas generales, los autoinjertos e isoinjertos son bien tolerados por el receptor, mientras que el destino de los aloinjertos y xenoinjertos viene marcado por el rechazo.

En el caso de los autoinjertos cutáneos, su evolución biológica se realiza en tres fases bien establecidas (PIULACHS, 1955) (224):

1º.- Fase de circulación plasmática, que dura uno o dos días. Por la exudación plasmática del lecho receptor se nutre el trasplante y por otra parte por coagulación del plasma extravasado, se forma una pequeña película de fibrina que fija el injerto a su lecho.

29.- Fase de vascularización.- Los vasos neoformados en el lecho invaden el injerto y se encargan de su nutrición. La vascularización del injerto se efectúa por tres mecanismos que comienzan a partir del segundo o tercer días:

- a.- Anatomosis boca a boca o por inosculation entre los vasos del lecho y los vasos del injerto.
- b.- Progresión de las yemas vasculares neoformadas en el lecho por los vasos degenerados del injerto, que sirven de guía.
- c.- Invasión del trasplante cutáneo por otros caminos diferentes de los vasos degenerados del injerto mediante los vasos neoformados.

Al mismo tiempo que se desarrolla la vascularización del injerto, se observan en el mismo fenómeno degenerativos que analizaremos después, pero que fundamentalmente consisten en un adelgazamiento de la epidermis, edema del dermis, infiltración leucocitaria entre el injerto y su lecho, etc.

30.- Fase de organización.- Comienza con la invasión de la capa de fibrina situada entre el lecho y su injerto, por fibroblastos a partir del cuarto o quinto día. Estos fibroblastos organizan tal capa de fibrina y penetran en el injerto, lo que permite obtener una firme fijación del mismo hacia el décimo día, pero con el

inconveniente de la retracción ---
del trasplante.

En el caso de los injertos gruesos o de piel total, la revascularización sanguínea debe ser precoz, pues en caso de que no suceda así, el injerto será eliminado total o parcialmente por necrosis isquémica.

Cuando se trata de aloinjertos o xenoinjertos, su destino viene marcado por el rechazo, cuyo mecanismo vamos a analizar a continuación.

RECHAZO DE ALOINJERTOS

Durante un periodo de tiempo variable, habitualmente de unos días, el órgano alotrasplantado parece que es aceptado por el organismo receptor; pero a partir de un momento determinado, aparecen signos de sufrimiento del injerto y se perturban sus funciones. El resultado final es la desintegración del trasplante, cuya estructura es sustituida por un tejido inflamatorio y fibroso, con infiltración de células mononucleadas de tipo linfocitocitario. Cuando ello es posible, como sucede con los trasplantes de piel, el injerto se elimina en forma de esfacelo necrótico.

El rechazo del órgano trasplantado constituye una forma de respuesta inmunitaria del receptor, pero hasta que se ha establecido el mecanismo inmunológico del rechazo, han sido muy variadas las inter

pretaciones que se han dado al fenómeno.

Durante la segunda mitad del siglo pasado comenzaron a utilizarse con REVERDIN los pequeños autoinjertos cutáneos que llevan su nombre, para tratar con éxito heridas extensas con tejido de granulación. Se pensó que el mismo éxito podría obtenerse utilizando homoinjertos e incluso heteroinjertos, de tal suerte que empezaron a utilizarse pieles procedentes de las mas diversos animales por toda Europa, si bien el donante mas popular fue el sapo. Se reconocieron pocos fracasos al procedimiento, ya que no se hacian estudios anatomopatológicos para no interferir la evolucion del trasplante y los fracasos reconocidos se imputaron a la técnica quirúrgica.

Sin embargo, ya en 1911, LEXER (150), tras una dilatada experiencia en trasplantes cutáneos - se muestra esceptico en la supervivencia indefinida de los aloinjertos. SCHÖNE, e 1908 (244) piensa que las diferencias bioquímicas entre las células trasplantadas y la del huesped, son las responsables del rechazo, y LEXER, basandose en esta idea, insinua la presencia de un fenómeno inmunológico en el fenómeno del rechazo. HOLMAN, en 1924, atribuye el rechazo a la diferencia química entre las proteínas del donante y las del receptor, de tal suerte que el fracaso se produce por una intoxicacion protéica - del huesped que termina originando reacciones de tipo anafiláctico.

En 1916, LOEB crea el concepto de "diferenciales de individualidad" o "diferenciales orgánicas" para designar ciertas diferencias bioquímicas especiales, presentes en las proteínas de

cada individuo, que originarian en el huesped que ha recibido un trasplante, actuando a modo de toxinas o venenos, una reacción defensiva cuya consecuencia sería la necrosis y eliminación del trasplante. Tales diferenciales tendrían una base genética, lo que permitía explicar a LOEB el fracaso de los aloinjertos y el éxito de los isoinjertos.

En 1927, BAVER realiza con éxito el primer trasplante cutáneo entre gemelos idénticos, lo que demuestra que la identidad genética entre el donante y el receptor es necesaria para que el trasplante sea aceptado indefinidamente por el receptor.

Sin embargo hasta los estudios iniciales de GIBSON y MEDAWAR (96) en 1942), sobre aloinjertos cutáneos en el tratamiento de las quemaduras y los estudios experimentales de MEDAWAR (176) en el conejo en 1944, no se ponía de manifiesto la naturaleza inmunitaria de los problemas fundamentales en el campo de los trasplantes. Gracias a estos trabajos iniciales y a los que siguieron con MEDAWAR, BILLINGHAN y BRENT, pudo demostrarse que el rechazo de homoinjertos se debe a un estado de inmunidad activa, adquirida por el receptor contra los antígenos tisulares del donante. Por otra parte esta reacción inmunitaria muestra una especificidad exquisita, y no tiene especificidad de especie.

En la actualidad está también establecida la naturaleza inmunitaria del rechazo y se basa en numerosas observaciones experimentales y clínicas.

Nuestros conocimientos sobre el rechazo de aloinjertos podemos resumirlos de la siguiente manera:

- 1.- Cuando se realiza por primera vez un aloinjerto, tras un periodo variable de tiempo, se produce el rechazo del mismo. Es el "fenómeno del primer aloinjerto" ("first set phenomenon") y corresponde a la "respuesta primaria" en inmunidad de trasplante.
- 2.- Si el mismo receptor recibe un segundo aloinjerto, procedente del mismo donante, el rechazo se produce en un plazo de tiempo menor. Es el "fenómeno del segundo aloinjerto" o "rechazo acelerado" ("second set phenomenon") que corresponde a la respuesta anamnésica o secundaria en inmunidad de trasplante y traduce un estado de inmunización provocado por el primer injerto, específico contra los antígenos del donante y no contra la especie, ya que si el receptor recibe un injerto procedente de otro donante de la misma especie, genéticamente diferente del primero, el rechazo se produce en un tiempo semejante al del primer aloinjerto.
- 3.- Si sobre un mismo receptor se repiten los injertos procedentes del mismo donante, o de donantes genéticamente idénticos, se llega al "fenómeno del injerto blanco", con rechazo inmediato.
- 4.- La depresión inespecífica (inmunodepresoras) o específica (tolerancia) de la respuesta inmunológica, conlleva un retraso o ausencia, respectivamente,

del fenómeno del primer aloinjerto. Del mismo modo que en la respuesta inmunitaria clásica, la depresión inespecífica tiene poco efecto sobre el fenómeno del segundo aloinjerto, de la misma manera que se obtiene escasa respuesta sobre la reacción anamnésica.

5.- La inmunidad de trasplante puede transferirse pasivamente a un animal normal mediante células linfoides y con dificultad con el suero de un animal que ha rechazado un solo aloinjerto. Cuando el animal ha rechazado un segundo aloinjerto la capacidad de un animal normal para rechazar un aloinjerto, procedente del mismo donante, puede transferirse tanto por células linfoides como por suero.

6.- Desde el punto de vista anatómico-patológico, en la reacción de rechazo es característica la infiltración perivenular por células mononucleares, que atraviesan la pared de los capilares y rompen el endotelio, hechos que contribuyen a la muerte del órgano por isquemia, aún cuando intervengan otros muchos factores (MOWBRAY 1970) (204).

7.- El rechazo de injertos se presenta como una reacción inmunológica del receptor contra el tejido u órgano trasplantado, o más exactamente contra los antígenos de trasplante del donante. Esta respuesta inmunológica se representa, ya clásicamente como un arco reflejo en el que se distingue:

- a.- Estímulo, representando ~~---~~ por los antígenos de trasplante del donante.
- b.- Arco aferente: Modo de acceso de los antígenos de trasplante del donante al sistema inmunocompetente del receptor.
- c.- Centro, representando por el sistema inmunocompetente del receptor, que transforma el estímulo en respuesta.
- d.- Arco eferente, que comprende la reacción humoral en forma de anticuerpos circulantes y la reacción celular bajo la forma de linfocitos sensibilizados, pues ambos tipos de respuesta intervienen en el rechazo del aloinjerto.
- e.- Respuesta: Interacción entre los anticuerpos humorales y las células sensibilizadas con los antígenos.

ANATOMIA PATOLOGIA DEL RECHAZO DE ALOINJERTOS

Desde el punto de vista histopatológico, en el rechazo de aloinjertos se observan dos tipos de fenómenos: Unos dependen del estado inmunológico del receptor, siendo comunes a la mayor parte de los aloinjertos, mientras que otros dependen esencialmente del tipo de vascularización del trasplante, y solo de una forma secundaria de la respuesta inmunológica del receptor.

A.- Fenómenos dependientes del estado inmunológico del receptor.-

El tiempo que tarda en producirse el rechazo de un homoinjerto depende de múltiples factores, (tipo y tamaño del injerto, lugar de implantación, diferencias genéticas, etc.). Sin embargo, cuando los mismos factores permanecen constantes, este tiempo varía dentro de un estrecho margen, y los hallazgos anatomopatológicos son casi invariables.

En lo que se refiere a los injertos cutáneos, que han sido los mas utilizados en el estudio del rechazo, los hallazgos anatomopatológicos se suceden de forma diferente según se trate de autoinjertos o de homoinjertos, y en este caso existen diferencias entre el primero y los aloinjertos sucesivos provenientes de un mismo donante, por lo que vamos a comentar los hallazgos mas importantes observados en los autoinjertos, en el primer aloinjerto, en el segundo aloinjerto y en el caso de varios aloinjertos.

AUTOINJERTO

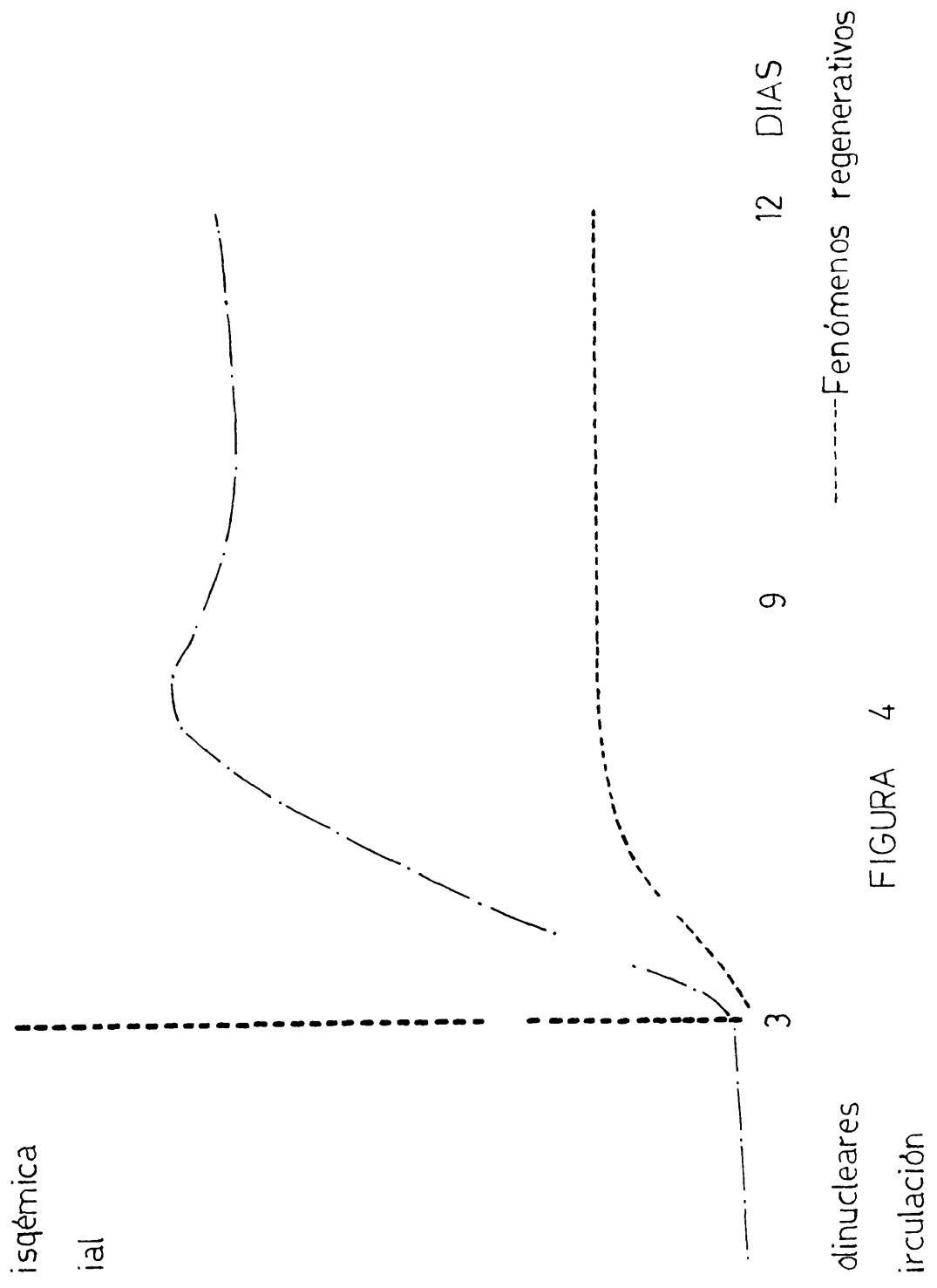


FIGURA 4

Sigueindo a PEREZ TAMAYO et al. (1968) (219), tales hallazgos pueden resumirse en la siguiente manera:

I.- Autoinjerto.- Durante las primeras 24-72 horas, el injerto supervive gracias a la exudación plasmática del lecho receptor, que es insuficiente para la normal nutrición del injerto, el cual presenta un cierto grado de sufrimiento isquémico, que se traduce por un infiltrado inflamatorio progresivo, constituido esencialmente por polinucleares. Estos primeros días constituyen la "fase isquémica precoz o nácional".

En cuanto se establece la vascularización del injerto, desaparece paulatinamente el infiltrado de polinucleares y el trasplante adquiere su estructura normal en un tiempo variable (12-16 días) (fig. nº 4).

Casi siempre se desprende la epidermis superficial del autoinjerto, que aparece seca y oscura, presentando debajo una capa epitelial de aspecto normal o regenerada, sobre un dermis algo aumentado de espesor. Los bordes cutáneos que circundan el injerto disminuye su perímetro por contracción, y en el límite entre la piel receptora y el injerto se identifica la cicatriz que fija este a aquella.

En ocasiones, cuando por la causa que fuere, la vascularización del injerto no ha sido eficaz, se produce la necrosis total o parcelaria, eliminándose la porción necrosada en forma de esfacelo duro y seco.

PRIMER ALOINJERTO

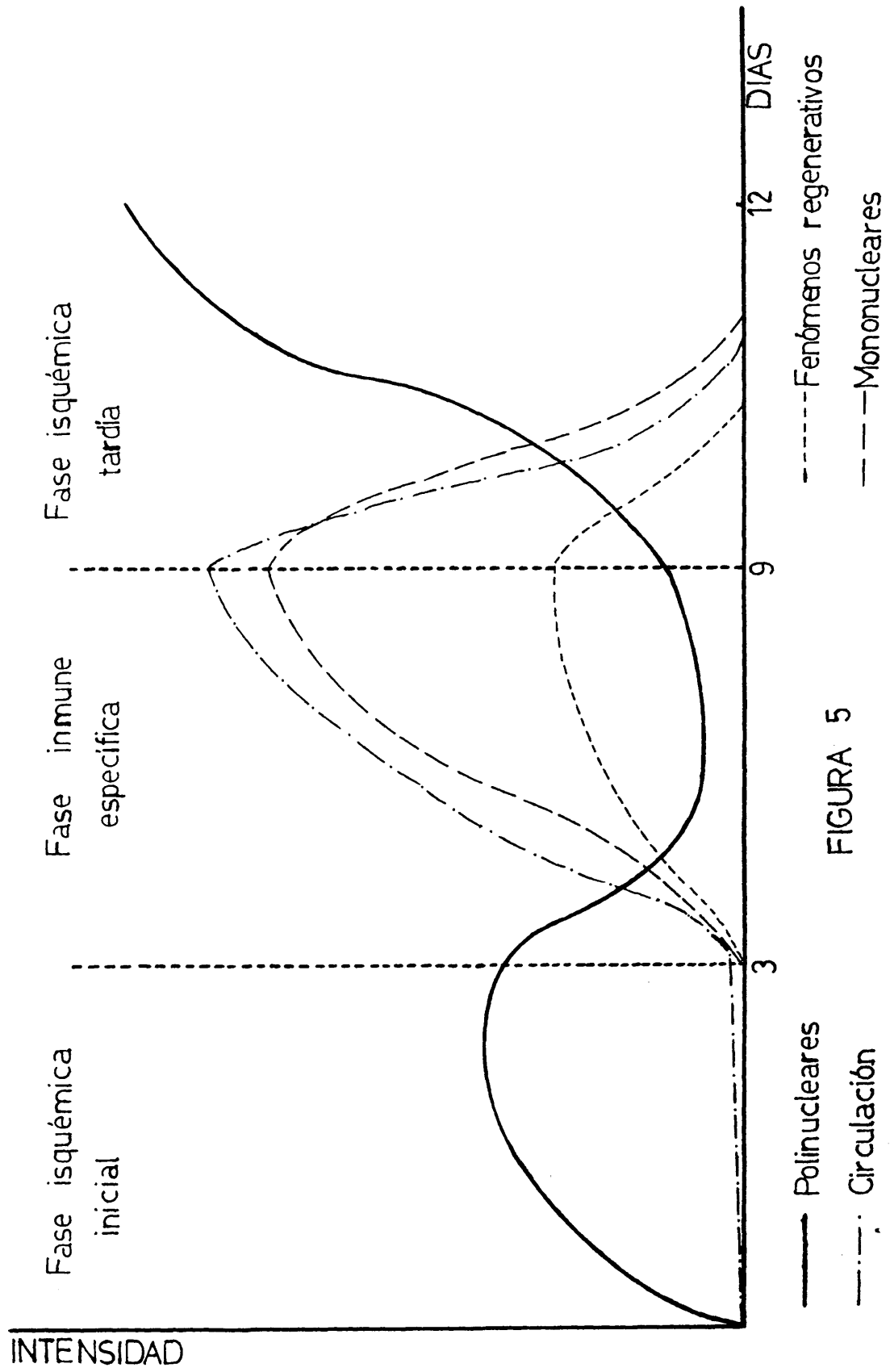


FIGURA 5

II.- Primer aloinjerto.- (Fig. nº5). Durante los primeros días presenta un aspecto macroscópico y microscópico similar al del ~~auto~~injerto. Pasada la "fase isquémica inicial", comienza la vascularización del injerto, disminuye la infiltración por polinucleares y comienza la regeneración de las estructuras lesionadas, pero simultáneamente se observa un fenómeno que no aparecía en el autoinjerto: Infiltración por células mononucleares del lecho del injerto y después del propio injerto, que aumenta progresivamente. Se trata fundamentalmente, de pequeños linfocitos, que en su mayoría son de nueva formación y provienen de las células blásticas del ganglio linfático regional, estimulado por el antígeno del donante (ELVES, 1971) (79). El infiltrado mononuclear se dispone fundamentalmente en torno a las venas, y además de pequeños linfocitos, pueden encontrarse linfoblastos, grandes células basófilas e histiocitos (FRIES, (1970) (90). Al mismo tiempo pueden observarse vasos sanguíneos dilatados, con tumefacción de sus células endoteliales.

A los ocho o nueve días, aparecen imágenes de obliteración vascular, con trombosis intravasculares, que definen la "fase isquémica tardía", cuya consecuencia es la necrosis del injerto, que evoluciona hacia un granuloma inflamatorio en el que según PEREZ TAMAYO et al. (1968) (219) desaparecen los mononucleares y reaparecen los polinucleares, expulsándose el aloinjerto en forma de un esfacelo seco y duro. Según FRIES (1970) (90) en el granuloma inflamatorio pueden encontrarse células mononucleares a las que se asocian polinucleares ~~neutrófilos~~ eosinófilos y algo más tarde células plasmáticas. Los fenómenos regenerativos que habían comenzado tras la fase isquémica inicial, cesan completamente.

El breve periodo de infiltración linfocitaria perivascular, constituye el hallazgo mas característico del rechazo del aloinjerto, por lo que PEREZ TAMAYO (219) le denomina "fase inmune específica", pues su presencia constante permite distinguir entre autoinjertos y homoinjertos y es la expresión de una reacción inmunológica del receptor frente al aloinjerto.

Desde el punto de vista macroscópico, el injerto aparece duro, oscuro, apergaminado, sin tendencia a cicatrizar en los bordes y comienza a levantarse de su lecho hasta que se desprende totalmente dejando al descubierto un lecho mas o menos epitelizado por debajo del injerto, en ocasiones reducido a un orificio puntiforme por contracción de sus bordes.

Según PALACIOS y GOMEZ (1958) (216), la reparación de la solución de continuidad cutánea, puede realizarse mediante cuatro mecanismos:

a.- Primer mecanismo.- Los bordes epiteliales del lecho receptor se afilan en forma de lengüetas que se insinúan por debajo de la epidermis. Dichas prolongaciones epiteliales llegan a contactar por debajo del epitelio del injerto, en cuyo momento se desprende la epidermis, pero el dermis del donante queda rodeado del dermis del receptor y por la epidermis de este. La traducción de este hecho es la aparición de una cicatriz de superficie lisa, sin depresión alguna. Se trataría de un auténtico injerto homostático, ya que el dermis del donante presta su armazón estructural para la reconstrucción de la zona.

b.- Segundo mecanismo.- Las lengüetas epiteliales que se forman en los bordes del lecho del injerto

se insinuan por debajo del injerto en todo su espesor, de tal suerte que se elimina por completo. Pero cuando el injerto ha sido eliminado por debajo del mismo ya existe un epitelio que recubre el lecho primitivo. En este caso el injerto se comporta como un auténtico apóscito biológico, y el resultado final es la presencia de una cicatriz ligeramente deprimida.

c.- Tercer mecanismo.- Es una mezcla de los dos precedentes. Las lengüetas epiteliales que se forman en los bordes del receptor son bíficas, de tal suerte que la mas superficial diseña la epidermis del dermis del injerto, mientras que la mas profunda se introduce por debajo del dermis de este. La epidermis se desprende como en el primer mecanismo, pero el dermis del injerto queda incluido en el espesor de un manguito epitelial del receptor. El resultado final es la presencia de una cicatriz de superficie lisa, sin depresion alguna. Tambien en esta forma de reparación, el aloinjerto se comporta como un auténtico injerto homostático.

d.- Cuarto mecanismo.- Los bordes cutáneos del receptor muestran poca actividad regenerativa, mientras que la epidermis del injerto se desprende y queda adherido el dermis del donante, al lecho del receptor. Al desprenderse la epidermis, las lengüetas epiteliales de los bordes cutáneos del receptor progresan sobre el dermis del donante que queda incluido en el lecho, actuando como un injerto homostático. El resultado final es el mismo que el observado en el primer mecanismo.

SEGUNDO ALOINJERTO

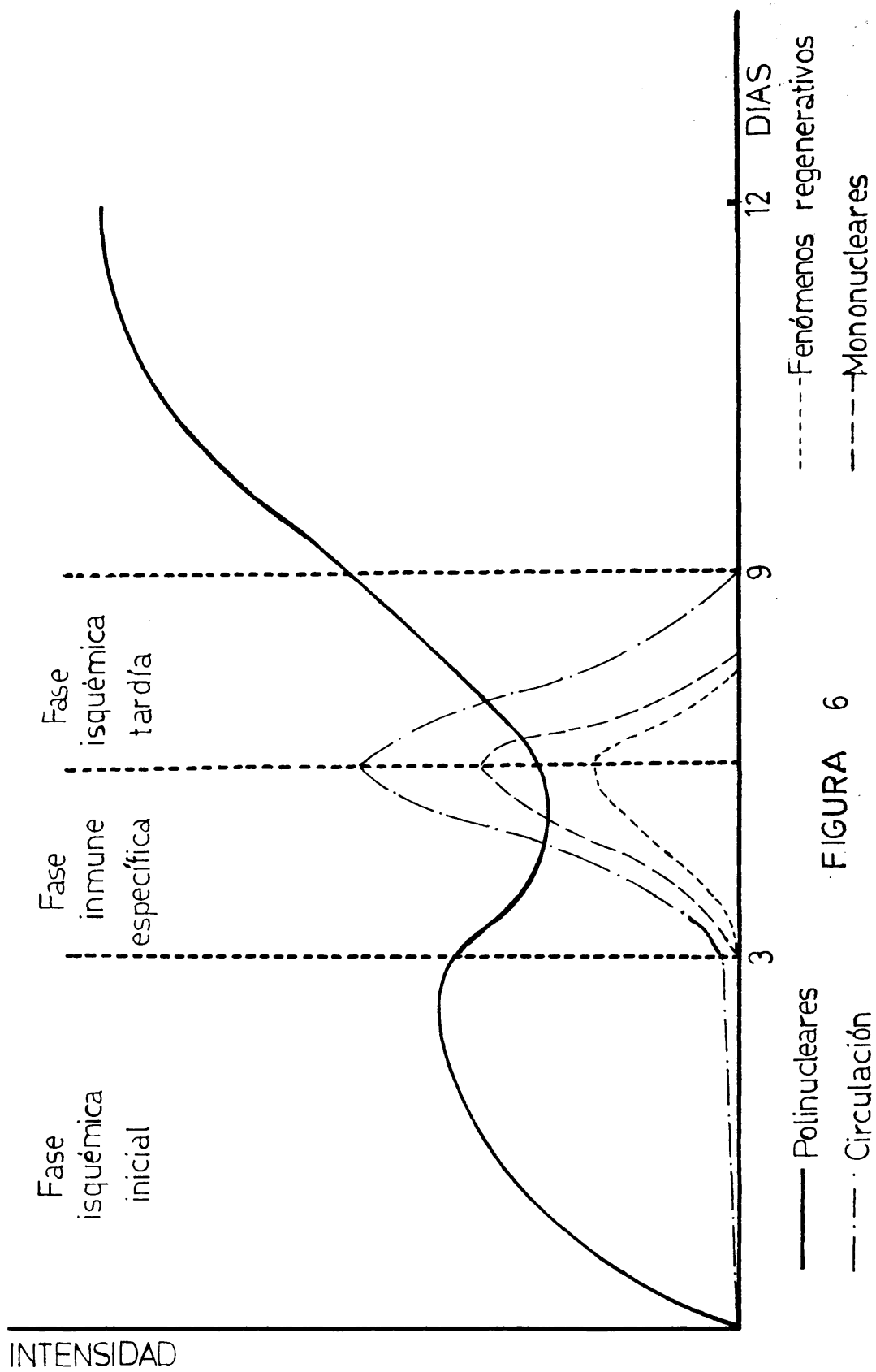


FIGURA 6

III.- Segundo aloinjerto.-(Fig. nº 6). Si tras el rechazo del primer homoinjerto se realiza un segundo aloinjerto, procedente del mismo donante (o de otro genéticamente idéntico a éste), se obtiene un rechazo acelerado, ya que la fase isquémica tardía se presenta con mayor rapidez. La infiltración celular se limita al lecho del injerto ya que este no es invadido por las células (FRIES, 1970) (90), y las modificaciones celulares de la "fase inmune específica" son difíciles de observar por su brevedad. La rapidez con que se suceden los acontecimientos, traduce un estado de sensibilización específica del receptor. Se produce una necrosis precoz del trasplante y el lecho del injerto cierra por contracción de sus bordes.

IV.- Injerto blanco.- Si un receptor recibe aloinjertos sucesivos de un mismo donante, adquiere una inmunidad de trasplante tan intensa que llega a producirse el rechazo inmediato del homoinjerto. En este caso no llega a establecerse la vascularización del trasplante y muere de isquemia, con acúmulo progresivo de polinucleares. No existe infiltración de células mononucleares en el lecho ni el menor intento de regeneración epitelial (Figura nº 7).

B.- Fenómenos dependientes de la vascularización DEL aloinjerto.- Según las conexiones del injerto con el receptor, se pueden establecer tres categorías de trasplantes:

"INJERTO BLANCO"

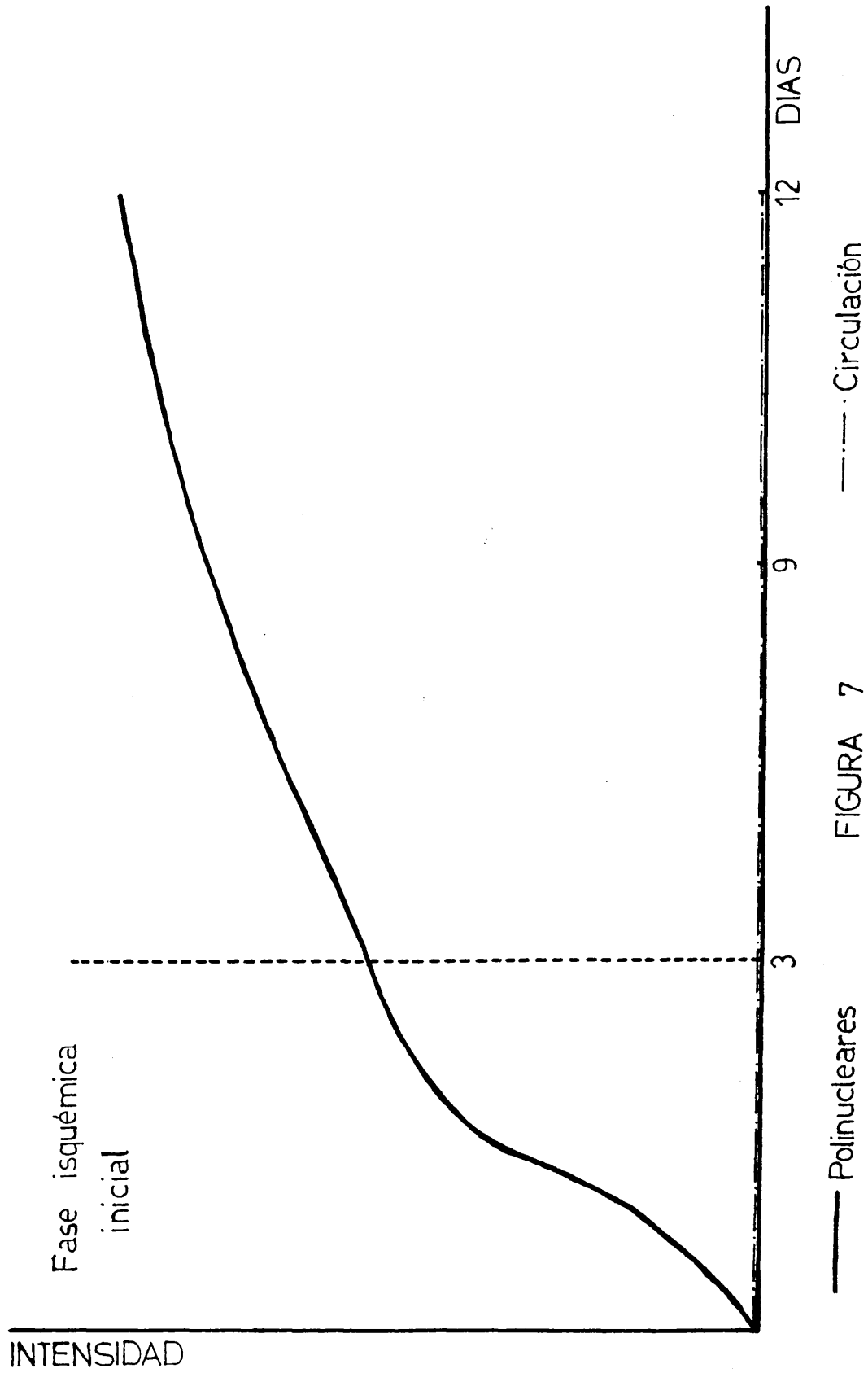


FIGURA 7

- 1.- Trasplantes con anastomosis vascular quirúrgica: Las conexiones vasculares entre el órgano y el receptor se establecen durante el acto operatorio: riñon, hígado, etc.
- 2.- Aloinjertos con vascularizacion retardada: La vascularizacion del trasplante se realiza de un modo espontaneo despues del acto quirúrgico. El injerto supervive durante una fase de isquemia prolongada (días) gracias a una inhibicion plasmática intersticial durante la cual se establece, de un modo espontaneo, la vascularizacion del trasplante. Tal sucede en los trasplantes de piel, fascia, glándulas de secrecion interna etc.
- 3.- Aloinjertos que no desarrollan conexiones vasculares con el receptor: médula ósea, córnea.
- I.- Alotrasplantes con anastomosis vascular inmediata.

Revisaremos brevemente el rechazo en los trasplantes renales, por ser el mejor conocido y servir de paradigma al tipo de injertos que nos ocupa.

Se describen tres tipos de rechazo en el hombre (HUME, 1969) (128).

i.- Rechazo agudo.- Inmediatamente despues de realizado el trasplante, los antígenos, en forma soluble o como trozos de células, o quizás transportados por los macrófagos, dejan el riñon y alcanzan los ganglios linfáticos, donde estimulan a los pequeños linfocitos y dan lugar a la produccion de linfocitos sensibilizados y anticuerpos humorales, que por la arteria renal llegan al injerto. En este tipo de rechazo, el papel principal parecen desempeñarle

los linfocitos sensibilizados, que pueden atacar directamente las células y el endotelio, sin necesidad del complemento o de otros factores séricos. Se trata de un mecanismo de rechazo de mediación celular fundamentalmente (FRIES 1970) (90) aunque los anticuerpos humorales también pueden participar en la destrucción del trasplante.

Macroscópicamente se caracteriza por un aumento del tamaño del riñón trasplantado (hacia el quinto día), mostrando una superficie pálida, con un punteado hemorrágico.

Microscópicamente el hallazgo fundamental lo constituye una infiltración celular algunas horas después del trasplante, constituida por un gran número de células mononucleares, pequeños linfocitos, linfoblastos y grandes células de tipo reticular que se acumulan en la luz de los capilares peritubulares y de las células, especialmente en la zona cortical. Tales células se ponen en estrecho contacto con las células endoteliales vasculares, apareciendo rupturas vasculares y alteración de las paredes del capilar con paso de los elementos celulares al tejido intersticial edema y hemorragia de dicho tejido intersticial, con posterior fibrosis y organización de las lesiones. La muerte del órgano puede deberse tanto a la isquemia como a la interacción de los linfocitos sensibilizados con las células blanco (MOWBRAY, 1970) (204). Con inmunofluorescencia pueden detectarse pequeñas cantidades de IgG (FRIES) (90).

ii.- Rechazo crónico.- Parece deberse a anticuerpos humorales principalmente por lo que se trataría de los denominados por FRIES (90), rechazo de mediación humoral. Los anticuerpos específicos ejercen su acción sobre dos lugares fundamentalmente: El endotelio vascular y la membrana basal del glomérulo. Las consecuencias son una proliferación endotelial que obstruye el vaso (comienza en las arteriolas de la

corteza y progresivamente va invadiendo vasos de mayor calibre) y ruptura de la membrana basal con paso de proteínas a la orina, llevando a una glo-merulonefritis grave.

iii.- Rechazo hiperagudo.-Este tipo de rechazo parece deberse a la existencia de anticuerpos preformados y comienza inmediatamente despues de realizado el trasplante, pudiendo presentarse una necrôsis cortical a los diez minutos del mismo. Es mucho mas frecuente despues de un segundo o tercer trasplante en un mismo receptor pero tambien puede presentarse despues de un primer trasplante entre donante y receptor con incompatibilidad ABO o si el receptor estaba sensibilizado por transfusiones previas (BRADLEY et al., 1971) (29) embarazo o infecciones bacterianas con antígenos similares a los del trasplante.

Los anticuerpos preformados penetran en el riñón trasplantado inmediatamente despues de la intervención y se ponen en contacto con los antígenos de las células endoteliales de los pequeños vasos, priginandose una reaccion antígeno-anticuerpo, con participacion del complemento, que ejerce una acción quimiotáctica sobre los leucocitos polimorfonucleares. Ambos elementos, leucocitos y complemento, destruyen el endotelio y sobre la pared denudada del vaso se depositan fibrina u plaquetas constituyendose un trombo que ocluye el vaso. La trombosis de los vasos del cortex renal, origina una necrosis cortical y la destrucción del trasplante.

El papel de los anticuerpos humorales en el rechazo renal ha sido muy bien estudiado por WILLIAMS et al. (1967) (295), JEANNET et al. 1970) (137) y DUBERNARD (1971) (77).

Pero ademas del rechazo, en el trasplante renal pueden existir otras complicaciones, tales como trombosis de la arteria o vena renales, con infarto del riñon trasplantado poco tiempo despues de la intervencion, estenosis de la anastomosis arterial con hipertension vasculo-renal, obstrucción uretral, fístula urinaria, etc. que nada tiene que ver con un mecanismo inmunológico (SHACKMAN, 1970) (250).

II.- Aloinjertos con vascularizacion espontánea retardada.

El prototipo de estos injertos lo constituyen los cutáneos, que a pesar de presentar una fase de nutricion precaria durante los primeros dias, superviven gracias a la circulacion plasmática extravascular, tiempo durante el cual se establecen las anastomosis vasculares espontáneas por los mecanismos analizados anteriormente.

Este tipo de trasplante se realiza cuando el tamaño de los vasos a anastomosar es demasiado pequeño para realizarlo por las técnicas habituales, y entre ellos cabe citar los aloinjertos de glándulas de secrección interna (paratiroides, suprarrenales, ovario, tiroides, etc.) y de secrección externa, que sufren una serie de vicisitudes semejantes a las de los injertos cutáneos.

III.- Aloinjertos sin vascularizacion.

En este grupo se incluyen:

- a.- Suspensiones celulares (médula ósea células linfoides o tumorales) administradas por diversas vias.

- b.- Aloinjertos corneales, que son bien tolerados en tanto no se vascularizan.

INMUNIZACION DEL RECEPTOR.-

El rechazo de los injertos se presenta como una -- reacción inmunológica del receptor contra los antígenos de trasplante del donante, que clásicamente se compara a un arco reflejo como se dijo anteriormente. Por este motivo dividiremos el epígrafe que nos ocupa en varios apartados.

I.- Antígenos de trasplante.- Como la reacción de aloinjerto se estudió principalmente mediante el empleo de injertos cutáneos, MEDAWAR (1946) (177) denominó antígeno de trasplante a todo -- antígeno capaz de provocar en un receptor la reacción acelerada de rechazo de un injerto cutáneo.

Los antígenos de trasplante o de histocompatibilidad, son sintetizados por las células siguiendo el esquema general de la síntesis proteica, de tal suerte que -- sus secuencias de aminoácidos están determinadas -- por las secuencias de nucleótidos del DNA. Tales antígenos se encuentran en la superficie de la mayor parte de las células de un animal, aunque su concentración puede variar considerablemente de unos tipos celulares a otros y con la especie animal considerada. Estos antígenos celulares constituyen el "contraste" o "marca" de la individualidad (PETERSON, 1970) (221).

Cada antígeno de trasplante está determinado por un gen de histocompatibilidad autosómico y dominante. Los aspectos genéticos de los antígenos de trasplante son muy complejos (CEPELLINI; 1969) (45).

Aparte de los antígenos eritrocitarios, gobernados por genes de un par cromosómico autosómico, la histocompatibilidad depende fundamentalmente de otros genes localizados en distinto par autosómico, que determinan antígenos presentes en todas las células de un mismo individuo, siendo su concentración mas elevada en la superficie de los leucocitos, de las plaquetas y de las células cutáneas.

En el ratón, animal del que se ha obtenido la mayor parte de los datos sobre genética de antígenos, hay una serie de "loci" genéticos que codifican tales antígenos. Se han descrito en este animal 13 loci de histocompatibilidad: 11 autosómicos (H-1 a H-11) y dos en los cromosomas sexuales (X e Y). Sin embargo no todos los loci genéticos determinan antígenos del mismo poder inmunógeno (antígenos mayores y menores de trasplante o antígenos fuertes y débiles). En el ratón, el locus H-2, es el responsable de los antígenos mayores de trasplante. Cada célula diploide tiene por tanto dos loci H-2, uno de cada progenitor, y los productos de ambos loci están expresados en cada célula. Por otra parte en el locus H-2 se han descrito sub-loci, cada uno de los cuales tiene multiples alelos (por lo menos se conocen 33 antígenos codificados por el locus H-2) (PETERSON 1970) (221). Los antígenos codificados por otros loci no son tan "fuertes" como los regidos por el locus H-2.

Uno de los antígenos determinados por el cromosoma Y es el responsable del fenómeno de EICHWALD-SILMSER: Si en una cepa de ratones homocigotos, se realiza un aloinjerto de macho a hembra se obtiene un rechazo tardío del trasplante; pero si el injerto

- b tiene lugar de hembra a macho, es aceptado permanentemente. Es un ejemplo de rechazo ligado al sexo.

En el hombre, el sistema principal de histocompatibilidad se conoce con el nombre de sistema HL-A y parece muy similar al sistema H-2 del ratón (BATCHELOR 1970) (17). Se conocen en la actualidad mas de 26 -- antígenos (BETUEL, 1971) (23), en este sistema.

Cada individuo posee habitualmente cuatro antígenos HL-A, dos determinados por un cromosoma de origen paterno y los otros dos determinados por un cromosoma de origen materno. La region H-A (locus HL-A), está situada sobre una de las 22 parejas de cromosomas -- autosómicos, atribuyéndose a cada cromosoma dos sub-loci, cada uno de los cuales gobierna una serie de alelos múltiples que son mutuamente exclusivos (BETUEL 1971) (23) (BETUEL, 1970) (22).

El primer sub-loci gobierna la producción de un antígeno, tomado sobre una lista de alelos mutuamente -- exclusivos que comprende los antígenos HL-A1, 2,3,9 -- 11, Da 15 (Ba^v), Da 22, Da 25, Te 19 (DAUSSET 1971) (63) (64)

El segundo sub-loci gobierna la producción de un antígeno, tomado sobre una lista de alelos mutuamente -- exclusivos que comprende los antígenos HL-A 5,7,8,12 13; Da 18,20,23,24, etc. (DAUSSET, 1971) (63) (64).

Así pues en cada cromosoma, cada sub-locus controla la presencia de un antígeno y el conjunto de ambos antígenos determinados por un cromosoma constituye el haplotipo, es decir existen dos antígenos por haplotipo, uno perteneciente al primer sub-locus y otro al segundo sub-locus. No se pueden tener dos antígenos del mismo sub-locus en cada haplotipo. El genotipo es el conjunto de los dos haplotipos, uno, heredado del padre y otro heredado de la madre, y por tan-

to comprende cuatro antígenos como máximo, dos dependientes del primer su-locus y otros dos dependientes del segundo sub-locus.

Estos antígenos, que pueden determinarse mediante pruebas serológicas como veremos despues, con frecuencia exhiben reacciones cruzadas cuando están determinadas por el mismo sub-locus. De esta suerte algunos antígenos incluyen en una misma denominación dos o mas especificidades distintas y por otra parte un anticuerpo aparentemente mono-específico reacciona con antígenos pertenecientes a especificidades diferentes (DAUSSET, 1971) (63).

- La connexion entre los dos sub-loci HL-A es muy estrecha, e incluso en algunas familias se ha descrito un "crossing-over" entre el cromosoma paterno y materno. Se puede concebir que cada sub-loci gobierna la produccion de una molécula antigénica (a menos que participen los dos sub-loci en la elaboracion de una molécula única), cuya estructura mas inmunógena se denomina determinante principal y es contra la que van dirigidos los anticuerpos. Sin embargo los diferentes componentes de una molécula HL-A 1 de un individuo, no son necesariamente idénticas a los de otro individuo HL-A1, pues como se ha demostrado en la actualidad, el cultivo mixto de linfocitos pertenecientes a dos individuos fenotípicamente idénticos en muchos casos va seguido de estimulación (DAUSSET, 1971) (63) y (REVILLARD, 1971) (234).

La deteccion de los antígenos de trasplante, constituye la base de la tipificacion de tejidos y de la selección de donantes en trasplante de órganos (VAN ROOD y EERNISE, 1979) (290). Según PETERSON (221) se puede realizar mediante procedimientos "in vivo" e "in vitro", que pueden clasificarse en:

- a.- Procedimientos "in vivo".- Comprenden:

linfocito normal.

2.- Test del receptor indi
ferente.

3.- Test G.V.H. (injerto-
contra-huesped).

b.- Procedimientos in vitro.- Entre
ellos:

1.- Test fr linfocitotoxicidad.

2.- Cultivo mixto de linfoci
tos.

Tales procedimientos serán analizados al tratar
de la seleccion de donantes.

Respecto a la naturaleza química de los antígenos
de trasplante (LEJEUNE, 1970) (146), puede estable-
cerse su contenido en hidratos de carbono, lípidos
y proteínas, mediante los procedimientos convencio-
nales de análisis. Tales antígenos, unidos a las -
membranas celulares, pueden liberarse mediante -
procesos autolíticos o por digestion con papaina.
Los productos solubles obtenidos se han identificado
inicialmente como glucoproteínas y se investiga -
sobre su estructura (secuencia de aminoácidos), -
aunque todavia existen muchos problemas por resol-
ver.

II.- Arco aferente: Inducción de la inmunidad de tra-
plantes. En virtud de este proceso
se origina la sensibilización de
los linfocitos, que se ha expli-
cado de dos maneras:

a.- Los antígenos de trasplante, en forma de células o de extracros celulares particulados o solubles, pasan a la circulación venosa o linfática y son captados por los macrófagos de los ganglios linfáticos -- y del bazo, que actúan sobre los linfocitos sensibilizándolos.

b.- Una clase especial de linfocitos circulantes, las denominadas "células precursoras" son susceptibles de estimularse directamente en contacto con el antígeno, (ELVES 1.971) (79), para lo cual abandonan la circulación sanguínea, atraviesan el injerto, y siguiendo los vasos linfáticos aferentes alcanzan el ganglio linfático regional localizándose en las áreas timo-dependientes. Este proceso se conoce con la denominación de "sensibilización periférica" del linfocito, que ha sido demostrada experimentalmente. Realmente se sensibiliza un número pequeño de linfocitos.

III.- La reacción de los centros linfoides o fase de expansión de la respuesta inmunitaria. A nivel de los centros linfoides,

bazo y ganglios linfáticos, se observan modificaciones estructurales. El ganglio aumenta de tamaño y la zona timo-dependiente es invadida por células -- pironinófilas que proliferan en este área. Si el injerto y el huésped son muy dispares desde el punto de vista genético, pueden producirse anticuerpos, -- observándose en el ganglio, la formación de grandes centros germinales y la proliferación de grandes células plasmáticas medulares.

Tras la administracion repetida de un antígeno por via subcutánea, suero heterólogo por ejemplo (MASSHOF y VOGEL), en los ganglios linfáticos tributarios se observa una intensa proliferacion de células reticulares, que se inicia en los cordones medulares. Al principio se trata de grandes células reticulares primitivas, pero despues el cuadro citológico es polimorfo, apareciendo abundantes formas de transición, y entre ellas células reticulares pequeñas, que son las precursoras del linfocito grandes, del que deriva el pequeño linfocito. Tambien por diferenciacion de las células reticulares pequeñas, se originan las células plasmáticas. La formacion y transformacion celular iniciada en la medula, prosigue en la corteza, donde se desarrollan en el interior de los nódulos corticales los denominados centros germinativos de FLEMING o centros de reaccion de HELLMAN, por acúmulo de células reticulares claras rodeadas de una corona de linfocitos densa y oscura.

Independientemente de estas modificaciones histológicas a nivel de los órganos linfoides, lo verdaderamente trascendente son los acontecimientos que tienen lugar a nivel celular. Las células inmunocompetentes o linfoplasmocitarias tienen un caracter común esencial (FRIES, 1970) (90) que es su gran riqueza en ribosomas. En virtud de este hecho se explica su afinidad por los colorantes tiazinicos (basofilia), por la pironina (pironinofilia) y su poder de segregar inmunoglobulinas, que pueden detectarse por fluorescencia.

Estas células tienen una serie de organoides comunes, y según el desarrollo del ergastoplasma se distinguen en dos clases de células inmunocompetentes: Las células linfoides y las células plasmocitarias.

a.- Células linfoides.- Comprenden una serie de tipos celulares que se distinguen por su ultraestructura:

1.- El pequeño linfocito, cuyo núcleo

presenta muchas veces una ~~exco-~~
 tadura lateral profunda, posee
 una cromatina densa y un pequeño
 nucleolo. Tiene un citoplasma es-
 trecho, con algunas mitocondrias, a veces algunos ~~g~~
 gránulos de glucógeno, frecuentemente un aparato de
 Golgi rudimentario y un pequeño número de ribosomas
 libres. Carece de retículo endoplásmico.

2.- El linfocito mediano y el gran lin-
 focito, con similares al anterior ,
 pero tienen un citoplasma mas abund-
 ante y su núcleo es menos oscuro.

3.- El linfoblasto es una célula de ma-
 yor tamaño, con un núcleo a veces
 alargado y con escotaduras, con cro-
 matina densa en manchas y sustancia
 intercromatínica mas clara. Posee -
 un nucleolo de mayor tamaño. Su citoplasma es muy abund-
 ante y en el existen abundantes mitocondrias y numero-
 sas ribosomas libres, pero el aparato de Golgi está -
 poco desarrollado. Presenta algunas laminillas ergas-
 toplásmicas aisladas y apastadas.

4.- El inmunoblasto, tambien llamado
 hemocitoblasto linfoide o célula
 reticular libre, tiene un núcleo
 redondeado, grande, con cromatina
 clara y granular que se concentra en las proximida-
 des de la membrana nuclear. Tiene uno o varios nucleo-
 los voluminosos. El citoplasma, mas o menos abundan-
 te, contiene grandes mitocondrias, aparato de Golgi
 y sobre todo abundantes ribosomas libres dispuestos
 en rosetas o polisomas. Tambien existen algunos sacos
 ergastoplásmicos.

b.- Células plasmocitarias.- A diferencia de las células linfoides presentan junto a los ribosomas libres en forma de polisomas, un ergastoplasma y un aparato de Golgi muy desarrollados lo que testimonia la existencia de una secreción protéica importante.

En la actualidad se admite que en el curso de una reacción inmunológica, el pequeño linfocito o "célula precursora", estimulada directamente o en contacto con los macrófagos, se transforma en "una célula intermediaria", de cromatina mas clara y despues de la " gran célula basófila", cuyo citoplasma aparece repleto de poliribosomas. Esta célula sufre una serie de divisiones sucesivas y al final de las mismas son posibles dos modos de diferenciación:

a.- Celulas plasmáticas, cuando el linfocito estimulado por el antígeno, pertenece a la serie bursa-dependiente o timo-independiente, localizada, fundamentalmente en la zona cortical superficial, folículos y centros germinales, y en los cordones medulares de los ganglios linfáticos. Tambien de los linfocitos timo-independientes proceden las células de memoria ("memory cells"), que pueden originar de nuevo células plasmáticas ante un nuevo estímulo antigénico.

Las células plasmáticas permanecen fijas en los órganos linfoides y se encargan de la síntesis de anticuerpos, base de la respuesta humoral.

b.- Linfocito sensibilizado, cuando el linfocito estimulado por el antígeno pertenece a la serie timo-derivada. Los linfocitos timo-derivados, son pequeños linfocitos, de vida larga, que pueblan las áreas timo-dependientes de los órganos linfoides secundarios, fundamentalmente las áreas paracorticales de los ganglios

linfáticos y las vainas periarteriolas del bazo. Estos linfocitos emigran constantemente de la sangre a la linfa y de esta vuelven a la circulación general. Al ganglio linfático llega atravesando las células endoteliales (emigración transcitoplasmática), (ELVES, 1968) (78) de las vénulas post-capilares, en las regiones paracorticales, y por los senos intermediarios o medulares, alcanzan el seno terminal y abandonan el ganglio linfático por el vaso eferente, llegando a las grandes vías linfáticas y eventualmente el conducto torácico. De esta suerte los linfocitos alcanzan de nuevo la circulación. En el bazo los pequeños linfocitos recirculantes ocupan las vainas linfocíticas periarteriolas, que constituyen el área timo-dependiente esplénica, pero la ruta de recirculación de tales linfocitos está peor establecida. La ruta de recirculación del linfocito ha sido estudiada experimentalmente por GOWANS y KNIGHT (1964) (103).

Estos diferentes tipos celulares linfoplasmodarios aparecen en los ganglios regionales pocas horas después de realizado el trasplante y los cambios celulares asientan fundamentalmente en las áreas timo-dependientes. La proliferación celular, alcanza su máximo nivel hacia el cuarto o quinto día después del trasplante.

Junto a las células inmunocompetentes, los macrófagos juegan un importante papel. Sus características estructurales vienen determinadas por su actividad fagocitaria: Presentan numerosas vacuolas, lisosomas e inclusiones fagocitarias, etc. Presentan menos ribosomas que las células linfoplasmodarias y no tienen basofilia como ellas. Su origen parece especialmente sanguíneo y ha sido etiquetado como monocitos emigrados hacia los tejidos. Serían pues células de procedencia medular, lo que justificaría el carácter no específico de su actividad fagocitaria (FRIES, 1970) (90).

La forma en que el antígeno actúa sobre el linfocito y el papel que desempeña los macrófagos en este proceso, quedó esbozada en el capítulo de inmunidad celular, por lo que no insistimos a fin de evitar repeticiones innecesarias. Cada vez está más extendida la idea de que los linfocitos que se estimulan en contacto con el antígeno poseen un receptor de membrana (anticuerpo célula limitante). Tal receptor actuaría como represor y éste, al quedar bloqueado por el antígeno, permitiría la secreción de anticuerpos o del factor celular de reconocimiento, según la información genética de la célula (LENO VALENCIA, 1972) (148)

En definitiva, durante esta fase de expansión de la respuesta inmunológica, lo que sucede es que un pequeño número de linfocitos estimulados antigenicamente da lugar a la producción de un gran número de células efectoras de la reacción inmunológica.

En la actualidad, esta es la fase de la reacción de homoinjerto mas susceptible de influir con el empleo de los inmunodepresores, ya que las poblaciones celulares que participan en el proceso presentan un metabolismo muy activo y las reproducciones celulares son muy frecuentes. Por este motivo las drogas antimetabólicas y antimitóticas utilizadas en la inmunodepresión química tienen una acción inespecífica favorable en el intento de prolongar la supervivencia de los trasplantes.

IV.-Arco eferente.-

Constituye la palanca efectora de la respuesta inmunológica, y se desarrolla según dos modalidades:

A.- Respuesta celular.- El modelo habitual -- de la inmunidad celular es la reaccion tuberculínica, caracterizada por una infiltracion perivascular de células mononucleadas, constituyendose un nódulo linfomonocitario. Este acúmulo celular puede tener como consecuencia la aparicion de un tejido fibroso e incluso -- cuando tal acúmulo es muy importante, puede originar una comprensión vascular seguida de isquemia, que en si misma no es un elemento característico de la reaccion de hipersensibilidad retardada.

El mecanismo por el que se produce esta migración celular, no se conoce por completo. Quizá se deba a que el linfocito sensibilizado sea portador de anticuerpos específicos en su superficie (ELVES, 1971) (79) ó por la capacidad del linfocito sensibilizado para producir sustancias farmacológicamente activas en contacto con el antígeno, (factor inhibidor de la migración de los macrófagos, factor quimiotáctico de los monocitos, -- factor mitogénico, etc.), que fueron analizados en el capítulo de inmunidad celular, o por ambas cosas a la vez.

La existencia de esta reacción de mediacion celular en inmunidad de trasplante se basa en múltiples pruebas:

1.- Infiltracion de células linfoides y mononucleares del órgano trasplantado durante la reaccion de homoinjerto. Es una -- reaccion semejante a los fenómenos de hipersensibilidad celular (reacción tuberculínica, enfermedades por autoagresion, dermatitis por contacto, etc.)

2.- La inmunidad de trasplante se transfiere pasivamente por células linfoides procedentes de un animal sensibilizado.

- 3.- La tolerancia adquirida se interrumpe cuando se inyectan células linfoides - procedentes de un animal sensibilizado.
- 4.- La inyección intradérmica de células de un donante a un receptor ya sensibilizado, produce una reacción inflamatoria con las características de la hipersensibilidad - retardada. El fenómeno se conoce como "reacción directa" de BRENT y MEDAWAR.
- 5.- La inyección intradérmica de células linfoides vivas procedentes de un receptor en la piel del donante produce igualmente una reacción inflamatoria retardada: "Reacción indirecta" de BRENT y MEDAWAR.
- 6.- La deplección linfocitaria por timectomía neonatal conlleva una tolerancia de homoinjertos prolongada o incluso indefinida. Mediante otros procedimientos de deplección linfocitaria (drenaje del conducto torácico, suero antilinfocítico, inmunodepresores, etc.), - igualmente puede prolongarse la supervivencia de aloinjertos.
- 7.- Clínicamente en los déficits inmunitarios congénitos, del tipo de la enfermedad de DI GIORGE, que es un déficit puro de inmunidad celular, o del tipo de la agammaglobulinemia suiza, que es un déficit inmunitario complejo, no se produce el rechazo de aloinjertos. Lo mismo sucede en enfermedades adquiridas (Hodgkin, sarcoidosis, etc.) del sistema linfático, en las que puede observarse un déficit en las respuestas inmunitarias de mediación celular.

B.- Respuesta humoral.- Consiste en la síntesis de anticuerpos específicos y siempre va asociada a la respuesta celular. Aún cuando en las investigaciones iniciales sobre inmunidad de trasplante se concedía escasa importancia a los anticuerpos humorales en el rechazo de aloinjertos, desde que se dispone de mejores procedimientos para su identificación, se ha empezado a conocer el alcance de este tipo de respuesta en el campo de los trasplantes.

La administración parenteral de material antigénico, en el animal de experimentación, se sigue de la producción de anticuerpos específicos. El tejido linfoide responsable de su producción depende mucho de la vía de administración. Si se administra por vía intravenosa, será el bazo el principal responsable de la producción de anticuerpos. Cuando se administra por vía intradérmica los ganglios linfáticos regionales juegan un papel importante.

En cualquier caso cuando el antígeno alcanza el ganglio linfático se localiza en dos zonas: En la medular, donde es captado por los macrófagos de los senos y en los folículos linfoides, donde es captado por las células reticulares que se disponen entre los linfocitos. Al microscopio electrónico se observa que el material antigénico no penetra en las células, sino que es adsorbido en su superficie (ELVES) (1971) (79). Una vez captado el antígeno, comienzan los fenómenos celulares apuntados en la fase de expansión, observándose grandes células plasmáticas en la región medular y la formación de centros germinales en los folículos linfoides corticales, que constituyen las regiones bursa-dependientes. En el bazo, tales modificaciones celulares tienen lugar a nivel de la pulpa roja. Ulteriormente aparecen células plasmáticas en los cordones medulares, y a medida que se suceden las modificaciones citológicas se detec

tan cantidades crecientes de anticuerpos plasmáticos.

El efecto coadyuvante del linfocito timo-dependiente en la producción de anticuerpos específicos frente a determinados antígenos quedó reseñado en el capítulo de Inmunidad humoral.

V.- Mecanismo efector.- Como consecuencia de la actuación de los anticuerpos específicos y de los linfocitos sensibilizados sobre el órgano trasplantado, se produce el rechazo del mismo.

En el rechazo del primer aloinjerto predominan los fenómenos de hipersensibilidad celular, con invasión del trasplante por células mononucleares. El mecanismo íntimo en virtud del cual se deteriora el injerto aún es mal conocido. Experimentalmente se ha demostrado que cuando linfocitos sensibilizados se ponen en contacto de células blanco, desarrollan una actividad citotóxica específica. En 1964 HOLM demostró que los linfocitos normales, no sensibilizados, en presencia de fitohemaglutinina, pueden destruir células antígenicamente diferentes. Mas recientemente, GINSBURG (1969) ha demostrado que los linfocitos en cultivo con células blanco de animales genéticamente diferentes desarrollan una acción lítica directa sobre las mismas: Aparece una gran célula pironinófila, con abundantes ribosomas pero sin retículo endoplásmico, que se fija sobre la célula blanco por una protrusión citoplásmica que quizá sirva para la inyección de un factor citotóxico (fermentos lisosómicos ?) (ELVES (79), que determina la muerte celular. Para que esto suceda es necesario un contacto directo entre la célula blanco y el linfocito sensibilizado (BRUNNER, et al., 1968) (34), lo que parece contradecir la idea de GRANGER (1968) (105) de que la acción lítica sería debida a la liberación de un factor solu-

ble citotóxico.

El anticuerpo célula-limitante del linfocito sensibilizado tendría como misión la de facilitar la adherencia de la célula efectora a la célula blanco.

Sin embargo, a la vista de los hechos experimentales, el efecto citolítico del linfocito no es de tipo inmunológico, sino que resulta inespecífico, como se desprende del hecho demostrado por HOLM, cultivando linfocitos no sensibilizados con células blanco en presencia de fitohemaglutinina.

El efecto lítico del linfocito se debe exclusivamente a la estimulación del mismo y la especificidad de la reacción inmunitaria de tipo celular estaría limitada al arco aferente, a la etapa del reconocimiento antigénico, pues una vez que el linfocito se ha sensibilizado adquiere un potencial citotóxico que puede ejercer frente a cualquier célula.

La comprensión exacta de este fenómeno de lisis celular es todavía difícil. E

En el fenómeno del segundo aloinjerto la participación de los anticuerpos humorales adquiere una gran importancia, jugando la presencia de complemento un papel fundamental.

En ausencia del complemento, las modificaciones celulares debidas a la interacción antígeno-anticuerpo, son poco importantes. El anticuerpo se fija sobre la pared celular y mediante las observaciones realizadas con el microscopio electrónico, se ha podido comprobar que en la membrana celular aparecen irregularidades en forma de pliegues y ondulaciones que favorecen la adherencia entre varias células (FRIES, 1970) (9a).

Sin embargo, en presencia del complemento, las modificaciones celulares son mucho mas aparentes: La fijación de anticuerpos y complemento sobre la ~~membrana~~ membrana celular da lugar a la aparición de verdaderos agujeros en la membrana citoplásmica, con hinchazón de las células por paso de agua y liberación de enzimas lisosómicas. Además el complemento atrae polinucleares que colaboran en la destrucción de las células blanco, sobre todo de las células endoteliales vasculares, favoreciendo las trombosis, aumentando la permeabilidad, etc., cuya consecuencia es la traducción histológica de este tipo de reacción: Edema, lesiones vasculares, trombosis intravascular, hemorragia intersticial, infiltración de polinucleares, etc., -- que llevan a la necrosis y destrucción del trasplante.

La importancia de los mediadores químicos en el rechazo del trasplante ha sido recientemente enfatizada -- por MOORE (201). Los factores vasoactivos liberados en la reacción antígeno-anticuerpo (histamina, serotonina, quininas plasmáticas), etc.), regulando el flujo sanguíneo aferente y eferente en el órgano -- trasplantado, así como la permeabilidad vascular y -- celular dentro del mismo, pueden jugar un papel muy importante en la severidad e instauración de los episodios de rechazo, por lo que en opinión de MOORE -- la identificación de la producción, liberación y -- acción de tales sustancias vasoactivas puede tener valor en el diagnóstico y tratamiento del rechazo -- agudo y en la prevención del rechazo crónico.

INMUNIDAD NATURAL EN BIOLOGIA DE TRASPLANTE. - Fuera
del --
cuadro
de la-

reacción inmunológica provocada por la introducción --
de los antígenos de trasplante, parece existir en --
todo individuo normal un cierto grado de iso-inmunidad
natural, es decir una aptitud permanente a rechazar --
tejidos extraños en ausencia de toda inmunización pre-
via.

- 1.- Reacción de injerto-contrahuesped. - Las
célu-
las -
linfoides vivas de un donante normal in-
yectadas a un receptor alogénico tolerante,
reaccionan contra los antígenos de este --
receptor, originando una reacción del in-
jerto contra el huesped.

Este tipo de reacción puede obtenerse utilizando como
receptores a animales recién nacidos, o a animales --
híbridos en primera generación (híbridos F_1), o bien
a animales sometidos a dosis inmunosupresoras de --
Rayos X . El animal que sufre tal reacción presenta
una hepato-espleno-adenomegalia, atrofia del timo, --
pérdida de peso, actitud encorvada y triste, lesiones
cutáneas (eritrodermia) y trastornos digestivos (dia-
rrea) y eventualmente el animal muere. Los órganos -
linfoides muestran una proliferación de células piro-
nófilas grandes, que derivan de los linfocitos del
donante.

- 2.- Test de transferencia del linfocito nor-
mal. - Los linfocitos sanguíneos de un
individuo normal inyectados por
vía intradérmica a un receptor -
normal, reaccionan contra los an-
tígenos de este receptor. Tal reacción local de injer-
to contra huesped constituye el test de transferencia

del linfocito normal.

3.- Cultivo mixto de linfocitos.- Cuando se mezclan dos poblaciones de linfocitos normales,

bien en un medio inmunologicamente neutro (bolsa del hamster irradiado), o bien en un tubo de cultivo, los linfocitos de una poblacion reaccionan contra los antígenos de la otra, y viceversa, apareciendo grandes células basófilas.

Una explicación posible a este estado de iso-inmунidad puede estar representada por las reacciones cruzadas que existen entre los antígenos de trasplante y determinados antígenos bacterianos (sobre todo estreptocócicos), frente a los que todo individuo normal tiene grandes oportunidades de inmunizarse.

4.- Inhibición alógena.- La reacción inmunológica no explica por si misma el conjunto de obstáculos

que se oponen a la supervivencia y desarrollo de un tejido implantado en un organismo extraño. El contacto íntimo entre dos superficies celulares con antígenos genéticamente dispares, puede impedir la supervivencia de estas células. Tal hecho constituye el fenómeno de la inhibición alogénica, también llamado de la preferencia singénica o isogénica. Este fenómeno parece tener mas importancia en los injertos de médula osea que en los trasplantes de órganos.

CHAPTER 11

MODIFICACION DE LA INMUNIDAD DE TRASPLANTE

La inmunidad de trasplante no sigue la ley de todo o nada, y aunque todavia presenta muchos aspectos desconocidos o mal conocidos, es posible, a la luz de los conocimientos actuales, modificar algunos de los factores que intervienen en el rechazo de los órganos trasplantados, de tal suerte que alguno de ellos no llega a alcanzar el nivel necesario para eliminar el injerto.

Mediante diversos procedimientos, que analizaremos a continuación, se trata de disminuir o anular la respuesta inmunológica desencadenada en el receptor de un trasplante homólogo, con el objeto de que este desempeñe sus funciones en el huesped.

Los procedimientos en virtud de los cuales puede conseguirse una modificación de la inmunidad de trasplante pueden clasificarse en los siguientes grupos:

- 1.- Disminución de la antigenicidad del trasplante que, de un modo general, puede conseguirse de dos formas:
 - a.- Inducción en el órgano a trasplantar de un estado de antigenicidad disminuida.
 - b.- Selección entre varios donantes disponibles de aquel que tenga menos diferencias de histocompatibilidad (o idealmente ninguna) con el receptor o a la inversa, selección del

receptor mas adecuado, desde el punto de vista de la histocompatibilidad, para un órgano procedente de un determinado donante.

2.- Disminución de la respuesta inmunológica del receptor, que constituye el objetivo de la inmunosupresión. Con estos procedimientos se busca conseguir un estado de no-reactividad inmunológica, bien inespecífica, o lo que sería mas deseable, específica, consiguiendo un estado de tolerancia inmunológica. La depresión inmunitaria inespecífica, la mas utilizada actualmente, comprende una serie de métodos físicos, químicos y biológicos que analizaremos en su momento.

I.- DISMINUCION DE LA ANTIGENICIDAD DEL TRASPLANTE.-

Los procedimientos empleados pueden incluirse bajo dos epígrafes: Disminución inducida de la antigenicidad y selección de donantes.

A.- Disminucion inducida de la antigenicidad.-

Se han realizados ensayos encaminados a disminuir el poder antigénico de los trasplantes, mediante congelación y liofilización (PALACIOS y GOMEZ, 1958) (216), paso de corrientes eléctricas (PICHLMAYR, 1969) (222), perfusion y radiación (STUART et al., 1971) (271), con escaso éxito, o al menos sin unos resultados uniformemente buenos. En general los procedimientos utilizados, aunque pueden disminuir la antigenicidad del trasplante, simultáneamente pueden producir una alteración importante en las funciones

del mismo, y su utilidad está en función inversa del daño que reciben las células o tejidos del trasplante y de la función que se espere del mismo.

LEMPERLE, en 1967, (147), ha obtenido resultados esperanzadores en injertos cutáneos experimentales tratados antes de su implantación en el receptor con DNA ó RNA de ésta.

Es posible que siguiendo este camino llegue a descubrirse algún procedimiento verdaderamente eficaz para disminuir la antigenicidad del trasplante sin alterar la vitalidad o viabilidad del mismo.

B.- Selección de donantes.— Ante cualquier trasplante de órganos, la determinación de los grupos tisulares del donante y del presunto receptor, constituye una necesidad universalmente reconocida.

Los dos sistemas antigénicos que juegan un papel importante en el campo de los trasplantes son el sistema eritrocitario ABO y el sistema leucocitario o tisular HL-A (TRNKA, 1971) (281). La presencia de anticuerpos preformados en el receptor contra los antígenos del donante es tan importante en el rechazo hipergudo, que es imprescindible realizar una prueba cruzada entre el suero del receptor y las células del donante para prevenir tal eventualidad.

Siguiendo a DAUSSET (1971) (64), las leyes fundamentales en la selección de donantes de órganos pueden establecerse de la siguiente manera:

1ª ley: Debe desestimarse el trasplante de órganos entre sujetos ABO~~0~~ incompatibles?

2ª ley: Entre donante y receptor debe existir un mínimo de incompatibilidades, y un máximo de identidades para los antígenos del sistema HL-A.

3ª ley: No deben existir anticuerpos preformados contra las células del donante en el suero del receptor, y en caso positivo debe desestimarse el trasplante.

A estas tres leyes puede añadirse una

4ª ley: Ante un mismo grado de histocompatibilidad, debe preferirse como donante un miembro de la familia (padre o hermano) que un individuo no emparentado con el receptor. (BETUEL, 1970) (22).

Las diferentes situaciones de histocompatibilidad que pueden presentarse al realizar la determinación de los antígenos del sistema HL-A, sobre la base de cuatro antígenos para cada fenotipo, pueden ser las siguientes (BETUEL, 1971) (23):

a.- Incompatibilidad: Que puede comprender desde uno hasta los cuatro antígenos diferentes entre donante y receptor.

b.- Identidad: Presentan los cuatro antígenos iguales. Es distinta la identidad genotípica (hermanos) de la identidad

fenotípica (individuos no emparentados): En el primer caso el cultivo mixto de --- linfocitos es negativo y en el segundo caso es positivo.

c.- Semiidentidad: Presentan un haplotipo --- idéntico y el otro diferente.

d.- Incompatibilidad potencial o incompatibilidad posible, ya que no se conocen todos los antígenos del sistema HL-A. Por este motivo es posible que un donante del que se conocen tres antígenos idénticos a los del receptor, presente el cuarto ~~no~~ conocido, incompatible con el de éste (incompatibilidad potencial); o bien que ambos, donante y receptor, presenten tres antígenos idénticos, y el cuarto sea desconocido en ambos (incompatibilidad posible). Por este motivo, ante un mismo grado de histocompatibilidad entre donante y receptor se prefieren los trasplantes entre familiares (padre-hijo; hermano-hermana) que --- entre individuos no emparentados (4ª ley).

Para evaluar la compatibilidad entre donantes y receptores se utilizan una serie de pruebas que tienden a ponerla de manifiesto. Tales pruebas son:

1.- Prueba del receptor indiferente o del "tercer hombre". Este test ~~dué~~ introducido por MATHE et al. en 1961 (167), como test de --- histocompatibilidad de injertos alogénicos en el ratón; en 1963 fue utilizado como test de histocompatibilidad en el conejo por MATSUKURA et al. (170) y en 1966, se ha utilizado en el hombre por --- MERY et al (181), para seleccionar donantes en los ---

trasplantes de médula ósea.

Su fundamento es el siguiente: Se injerta piel del futuro receptor a un tercer individuo no emparentado y una vez que la piel ha sido rechazada, se injerta a este mismo individuo piel procedente de cada uno de los futuros donantes. El donante cuyo injerto se rechaza mas deprisa se considera como el más próximo al receptor, desde el punto de vista antigénico.

Este test, por sus inconvenientes, ha sido poco utilizado en el trasplante de órganos.

- 2.- Test de la transferencia de linfocitos normales.- Esta prueba fué descrita por BRENT y MEDAWAR en 1963 (31) en el cobaya. Consiste en inyectar por via intradérmica los linfocitos vivos del futuro receptor a una serie de donantes eventuales, originando un área local de enrojecimiento e induración al cabo de 24-48 horas cuya intensidad traduce la reacción de las células linfoides contra los antígenos de trasplante de la piel del donante. El donante que presenta una reacción mas débil será el mas adecuado para el trasplante.

Por diferentes razones este test no ha sido práctico en el hombre (GOLDSMITH, 1965)(97).

- 3.- Prueba del hamster irradiado.- Se ha utilizado como método de selección de donantes en el hombre (STREILEIN et al., 1966) (268). La prueba se realiza de la siguiente manera: Se preparan mezclas de linfocitos del futuro receptor

con linfocitos procedentes de cada uno de los posibles donantes, y cada una de las mezclas se inyecta por via intradérmica a un hamster irradiado con 1.500 r. Cada una de las mezclas origina un proceso inflamatorio, cuya intensidad a las 48 horas es directamente proporcional al grado de disparidad genética entre donante y receptor. Realmente se trata de un cultivo mixto de linfocitos "in vivo", ya que el hamster, que ha recibido una radiacion subletal tiene sus reacciones inmunológicas abolidas.

Las tres pruebas expuestas son procedimientos "in vivo", que en la actualidad han sido desplazados por los métodos "in vitro", que vamos a analizar ahora:

4.- Cultivo mixto de linfocitos.- Este test ha sido puesto a punto por BAIN et al (9) y BACH e HIRSCHHORN (6) en 1964, al observar el comportamiento en un medio de cultivo, de linfocitos pertenecientes a individuos diferentes. Al cabo de algunos días aparecen células blásticas, hiperbasófilas, que sintetizan DNA y muestran mitosis. Este fenómeno no se produce cuando los linfocitos pertenecen a gemelos univetelinos, y el porcentaje de células que sufren la transformación blástica (cuando los linfocitos no pertenecen a gemelos univetelinos) está en relacion con las diferencias genéticas de las poblaciones celulares. La evaluación del test se hace por la morfología del cultivo o por la incorporación de timidina tritiada, que testimonia el incremento de la síntesis de DNA.

En el cultivo mixto de linfocitos las células del donante estimulan a las del receptor y viceversa. Por este motivo, las células del presunto donante son tratadas con mitomicina, que inhibe la síntesis de DNA, pero no inhibe el poder estimulante (antigénico) de dichas células.

Es un test de ejecucion delicada y con el inconveniente de que la respuesta no se obtiene hasta despues del séptimo día de cultivo, lo que excluye su utilizacion en casos de emergencia. Sin embargo puede revelar disparidades entre presunto donante y receptor cuando no se dispone de antisueros para detectar los antígenos HL-A. En la actualidad el cultivo mixto de linfocitos, junto con el test de linfocitotoxicidad, constituyen los medios mas seguros de tipaje tisular.

Por otra parte existe una estimulacion en cultivo mixto de linfocitos entre individuos no emparentados, idénticos para los dos sub-loci del sistema HL-A (fenotípicamente idénticos), lo que hace prejuguar la existencia de otros sub-loci.

Mas recientemente, se han empezado a realizar cultivos mixtos entre células cutáneas (y células epiteliales bucales) y leucocitos alogénicos (COCHRUM et al., 1971) (48), demostrando que tales células son potentes estimulantes de la síntesis de DNA en los leucocitos alogénicos y además la reaccion es unidireccional, de tal suerte que solo se estimulan los leucocitos, pero no al revés.

5.- ~~Pruebas~~ Pruebas serológicas.- El grupaje leucocitario es una técnica serológica que pone de manifiesto de forma específica, los antígenos leucocitarios por medio de antisueros adecuados. Tales antisueros pueden ser de procedencia animal (conejo, primates) o mas frecuentemente humana: individuos politransfundidos, multiparas, receptores de trasplantes renales o donantes inmunizados voluntariamente.

Los métodos utilizados son:

a.- Leucoaglutinacion.- Es el método serológico

mas antiguo. Aunque tiene muchas variantes el procedimiento, en líneas generales, consiste en poner en contacto una gota de una suspension de leucocitos con una gota de antisuero calentado a 56°C para eliminar un inhibidor. Despues de la incubación a 37°C la reaccion se lee al microscopio. En la actualidad es un procedimiento poco utilizado.

b.- Eijación del complemento sobre las plaquetas, procedimiento utilizado por SHULMAN, que tiene la ventaja de su reproductibilidad y de la posibilidad de conservar las plaquetas sin alteración de sus antígenos durante varios meses (en un medio salino a 4°C), aunque tiene el inconveniente de ser necesarias mayores cantidades de antisuero que con el test de la linfocitotoxicidad. Se han descrito micrométodos de esta técnica, que quizá generalicen su empleo (BETUEL 1971) (23).

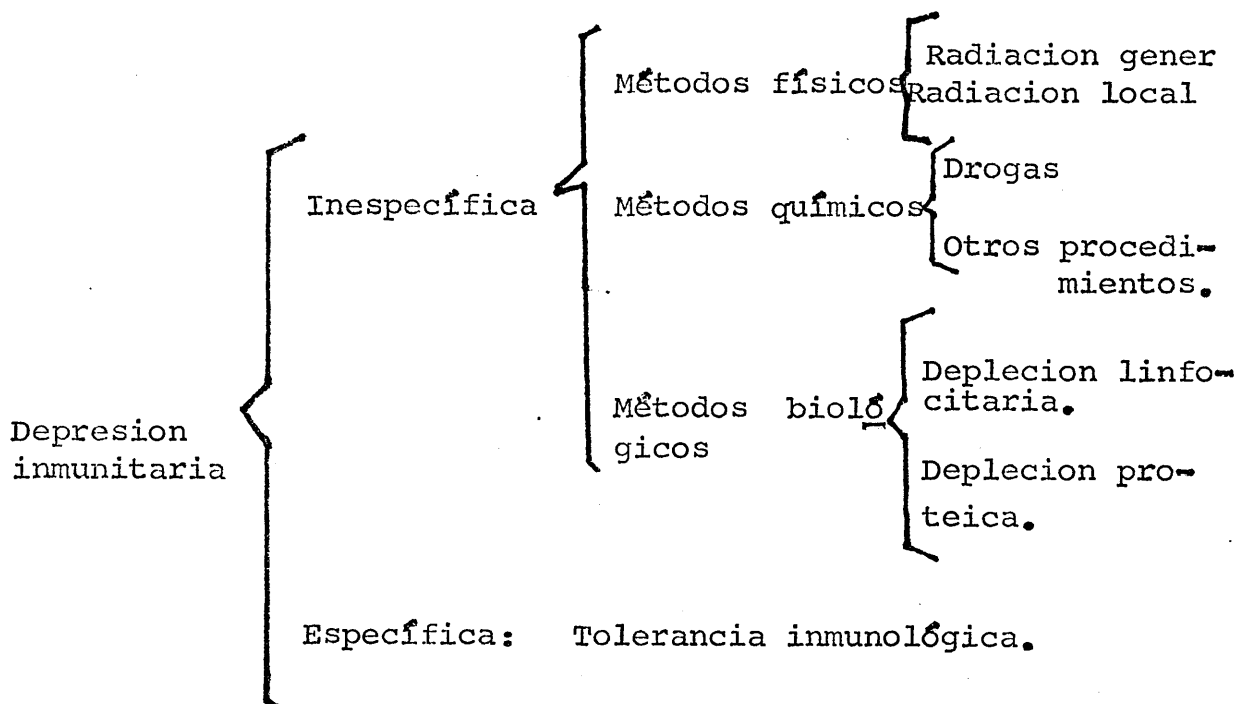
c.- Linfocitotoxicidad.- Es el procedimiento mas utilizado en la actualidad. Na prueba consiste en poner los linfocitos del receptor en contacto con diferentes antisueros, en presencia de complemento humano o animal, cuya acción es indispensable. Las combinaciones antisuero-células se incuban durante 30 minutos y se añade un colorante (azul tripan o eosina) que tiñe las células muertas, mientras las célulasvivas permanecen sin colorear. Las células muertas son el testimonio de la interacción del antígeno, del anticuerpo y del complemento. Este procedimiento fue utilizado en el hombre por TERASAKI en 1964) (272), y su micrométodo se ha difundido rápidamente por su fiabilidad, precision, economía de reactivos y posibilidad de lectura diferida de las reacciones.

El problema mas arduo en todos estos procedimientos serológicos es la obtencion de antisueros monoespecíficos.

II.- DISMINUCION DE LA RESPUESTA INMUNOLOGICA DEL RECEPTOR.- INMUNODEPRESION E INMUNOSUPRESION.

La abolición (inmunosupresion) o disminución (inmunosupresion) de la respuesta inmunológica del organismo encuentran su indicación en dos clases de procesos: Enfermedades por autoagresion y trasplantes de órganos (PICHLMAYR, 1969) (222).

Siguiendo a PEREZ TAMAYO et al., (1968) (219), los procedimientos encaminados a conseguir la depresion inmunitaria pueden resumirse en el siguiente cuadro:



Los procedimientos utilizados para conseguir una depresión inmunitaria específica frente a un antígeno determinado fueron analizados en el capítulo de la tolerancia inmunológica, que sería la solución ideal en el terreno de los trasplantes y constituye un campo de investigación con un futuro muy prometedor ya que no deprime otras reacciones inmunitarias del individuo.

Los procedimientos empleados para conseguir una depresión inmunitaria inespecífica, realmente, no constituyen la solución ideal del problema, ya que con su empleo se disminuyen las reacciones inmunitarias frente a cualquier antígeno, con lo que aumentan los efectos secundarios indeseables. Sin embargo son los únicos de que se dispone actualmente para realizar con éxito el trasplante de órganos, aún cuando es ocasiones exigen un alto precio como tributo a sus beneficios.

A.- Métodos físicos. Entre ellos cabe distinguir:

1.- Irradiación general. Aplicada sobre el receptor antes o en el momento del aloinjerto conduce a una mayor supervivencia del mismo. Su efecto guarda una relación lineal con la dosis (a mayor dosis mayor supervivencia del injerto), hasta alcanzar un nivel por encima del cual, aún cuando aumente la dosis, no aumenta la supervivencia del aloinjerto.

Experimentalmente se conoce muy bien su acción en los pequeños animales de laboratorio. En el conejo las dosis bajas (400r) deprimen solo la respuesta humoral, pero no afectan la respuesta inmune celular; a dosis altas (800r) se deprimen ambas formas de reactividad inmunológica. En otros animales se obtienen los mismos efectos, dentro de ciertos límites, con independencia de la dosis administrada.

En general la respuesta inmunitaria secundaria es mas resistente que la primaria al efecto de la irradiacion, pero tambien depende del animal de experimentación empleado.

Como casi todos los métodos inmunosupresores, la irradiacion actúa a varios niveles sobre la reacción inmunológica. El tejido linforetico es muy sensible a la acción de los rayos X que, de un modo general interfieren en el metabolismo de los ácidos nucleicos, inhibiendo la proliferacion celular y la síntesis de anticuerpos (220). Los rayos X, a nivel del arco aferente, disminuyen la accion fagocitaria de los macrófagos (PRIBNOW y SILVERMAN, 1967) (227) y el número de linfocitos sensibles al antígeno (FINK 1970) (84). La fase central o de expansion es el estado mas vulnerable de la reaccion inmunológica a todos los agentes inmunosupresores en general y a los rayos X en particular (PILCHLMAYR, 1969) (222), inhibiendo la proliferacion de los linfocitos activados y su diferenciacion en células plasmáticas o linfocitos sensibilizados.

El problema fundamental del empleo de la radioterapia está representado por sus efectos secundarios, que han hecho que su empleo se vez muy restringido en la actualidad. A dosis muy elevadas, del orden de los 15.000 r., producen la muerte del animal irradiado en unos cuantos dias como consecuencia de lesiones ulcerativas hemorrágicas del aparato digestivo. Con dosis menores, de 400 a 1.500 r (dosis subletal), de acuerdo con la ley de BERGONIE-TRIBONDEAU, por la gran radiosensibilidad de las células hematopoyéticas, se puede producir la muerte del animal de experimentacion por insuficiencia medular. Las dosis mínimas necesarias para suprimir la reactividad inmunológica tambien son depresoras de la actividad hematopoyética, por lo que el organismo irradiado queda en un estado de equilibrio entre el efecto deseado y el efecto secundario.

Mediante el empleo de diversos artificios se ha intentado evitar la depresión hematopoyética, sin interferir sobre el efecto de la irradiación sobre la reactividad inmunológica; Protección del bazo durante la radiación (órgano hematopoyético secundario) o la inyección de células medulares alogénicas, con el peligro de instauración de una reacción injerto-contrahuesped enfermedad homológica, síndrome secundario) (MATHE, 1971) (169).

La enfermedad homóloga es probablemente idéntica a la enfermedad de los enanos ("runt disease") que se produce con la administración de células linfoides alogénicas a un receptor inmunológicamente incompetente, las cuales asumen la reactividad inmunológica y la dirigen contra el huesped. Estos animales rechazan autoinjertos y aceptan aloinjertos procedentes del mismo receptor que la médula ósea.

Ante la posibilidad de estos peligros, se ha intentado emplear alguna modificación que evite los efectos secundarios de las radiaciones, tales como el injerto de médula ósea alogénica embrionaria, con la esperanza de obtener un estado de tolerancia en lugar de desencadenar una reacción injerto-contrahuesped, con resultados variables; o bien obtener médula ósea autóloga antes de la irradiación para transfundirla después de la misma, procedimiento que se muestra útil si se pretende obtener una inmunodepresión transitoria, pero con poca aplicación cuando se persigue la instauración de una inmunodepresión prolongada, ya que con el tiempo se regenera el aparato inmunocompetente del receptor.

2.- Irradiación local. Bajo este epígrafe se pueden incluir una serie de procedimientos utilizados más recientemente con el objeto de obtener las ventajas de la irradiación evitando sus efectos secundarios.

Su empleo se funda en el hecho de que durante las fases iniciales de la inmunidad de trasplante los fenómenos inmunológicos están limitados al ganglio linfático regional. Sin embargo esta localización o focalidad es muy pasajera, por lo que no cabe esperar buenos resultados. La irradiación local del trasplante también se ha utilizado para destruir los linfocitos sensibilizados (PICHLMAYR 1969) (222).

Una técnica que promete resultados esperanzadores es la irradiación extracorpórea de la sangre, con dosis que destruyen los linfocitos pero no las demás células sanguíneas. Los fundamentos teóricos, las modalidades técnicas (radiación de la linfa del conducto torácico o de la sangre, con Rayos X, radiaciones β , radiaciones γ , y rayos ultravioleta) así como los resultados obtenidos han sido muy bien estudiados por CRONKITE et al., 1965 (57) y por HOLLARD, 1970, (123).

Otros intentos en este sentido se han realizado mediante la administración intravenosa de Itrio (Y^{90}), ya que este isótopo parece irradiar de forma selectiva los linfocitos circulantes. También experimentalmente se ha colocado una cápsula emisora de radiaciones beta en la aurícula derecha del perro, con lo que se consigue una irradiación de la sangre circulante. No obstante tales procedimientos se encuentran en plena fase experimental.

B.- Métodos químicos. La inmunosupresión farmacológica representa, en la actualidad, uno de los procedimientos más eficaces para prevenir y tratar el rechazo de los órganos trasplantados. Su estudio lo dividiremos en dos partes,

una dedicada al estudio de las drogas inmunosupresoras y otra dedicada al estudio de otros procedimientos químicos, de menor aplicación o peor conocidos.

1.- Drogas inmunosupresoras.- Las principales familias de tales drogas son --

(DORMONT, 1970) (76): Los corticoides, los antimetabolitos (antipurínicos, antipirimidínicos, antifólicos), los agentes alquilantes, los antibióticos, ribonucleasas, mitogénéticos, quimioterápicos diversos y, aunque no se trata de drogas propiamente, algunos virus y bacterias.

Según BACH (1971) (8), desde el descubrimiento por SCHWARTZ en 1958, de la acción inmunosupresora de 6-Mercaptopurina en el conejo, al inhibir la secreción de anticuerpos frente a la seroalbúmina bovina, se ha demostrado la acción inmunosupresora de numerosos agentes, pero los que han demostrado su mayor eficacia a la luz de los hallazgos experimentales y clínicos, son los siguientes: 6-Mercaptopurina y Azatioprina, Ametopterina, Clorambucil, Ciclofosfamida, suero antilinfocitario, Poliribonucleasas, Asparaginasa, Fitoheماغلوتينina y los Corticoides.

Los inmunodepresores son activos sobre las reacciones inmunológicas humores y celulares, e incluso algunos de ellos, cuando se administran con el antígeno, pueden inducir el fenómeno de la tolerancia inmunológica en el adulto.

Los métodos empleados para realizar el estudio de la acción inmunosupresora de los diversos agentes empleados puede realizarse "in vivo" e "in vitro".

Los métodos de valoración "in vivo" se basan en el estudio de la secreción de anticuerpos en el suero de animales sensibilizados frente a diversos productos (glóbulos rojos heterólogos, proteínas heterólogas, bacilos etc.); en el estudio de la reacción inflamatoria de hipersensibilidad retardada en el cobaya sensibilizado a la tuberculina o a otras sustancias químicas, como el dinitro-clorobenceno (JOSEPH, et al., 1971) (138); en el estudio de la supervivencia de injertos de piel; o en el estudio de reacciones locales injerto contra huésped (MERINO, et al., 1971) (178).

Los métodos de estudio "in vitro" han desplazado a los anteriores y en la actualidad son mas utilizados. Entre ellos cabe destacar:

- a.- Cultivo de linfocitos sensibilizados en presencia del antígeno y del inmunodepresor sometido a estudio. Si bien es un buen procedimiento tiene muchos inconvenientes tales como su lentitud, su delicada ejecución y no poderse aplicar mas que a linfocitos sensibilizados.
- b.- Placas de JERNE, que consiste en observar las células linfoides capaces de formar, en presencia de complemento, una placa de hemólisis en un medio gelificado que contenga glóbulos rojos. Es un procedimiento mas sencillo que el anterior, pero solo puede aplicarse a células sensibilizadas. El estudio de tales placas en presencia de inmunosupresores sirve para evaluar la acción de estos.
- c.- Estudio de la inhibición de las rosetas.- El test de las rosetas es una técnica de inmunocitoadherencia, que consiste en estudiar las células capaces de aglutinar en su superficie a los glóbulos rojos en medio líquido (BACH et al., 1969) (7).

Es un test de gran sensibilidad, se aplica a células no sensibilizadas y puede realizarse en el hombre a partir de linfocitos de la sangre periférica.

La inhibición de las rosetas espontáneas en presencia de 6-mercaptopurina se obtiene para una concentración de 0,0078 mg/cc; la inhibición de rosetas inmunes necesita una concentración de 0,0625 mg/cc. y el efecto citotóxico exige una concentración de 1 mg/cc (DORMONT, 1970) (76). El cociente que resulta de dividir la dosis citotóxica por la dosis que inhibe las rosetas espontáneas, se denomina "índice terapéutico" del agente considerado, que es de 400 para la Azatioprina, 128 para la 6-mercaptopurina 60 para la Ametopterina, etc.

En líneas generales aun cuando los resultados obtenidos en los animales de experimentación no son superponibles entre las distintas especies (incluido el hombre) las características fundamentales de la acción de los inmunodepresores son las siguientes:

a.- Todos los inmunodepresores son mas activos durante la respuesta primaria. La acción sobre la respuesta secundaria es inconstante, mas limitada y son necesarias dosis mas potentes o prolongar su utilización en el tiempo.

b.- El efecto obtenido depende del tiempo transcurrido entre la administración del antígeno y del agente inmunodepresor, que de un modo genérico, deben administrarse al mismo tiempo que el antígeno e incluso con anterioridad al mismo en algunos casos, por su acción durante la fase de multiplicación celular.

- c.- Casi todos los inmunodepresores deben su actividad a productos derivados de su metabolismo (metabolitos activos), mal conocidos.
- d.- Existe una relacion dosis-efecto, que ha sido estudiada experimentalmente, y la administración de los inmunodepresores en la clínica a dosis fraccionadas, como se hace habitualmente, no está demostrado que corresponda a su efecto óptimo (DORMONT, 1970) (76).
- e.- Su acción sobre las diferentes células o fases de la respuesta inmunológica es muy variable de unos a otros fármacos, aunque su máxima eficacia, en general se obtiene cuando actúan sobre la fase de inducción (arco aferente) o al comienzo de las divisiones celulares -- (fase central o de expansión).
- f.- Los mecanismos bioquímicos en virtud de los cuales llevan a cabo su acción son muy variados: Inhibición de enzimas celulares, -- acción sobre el DNA o el RNA (que tambien reviste múltiples posibilidades), etc.
- g.- La mayor parte de estas drogas resultan tóxicas para el organismo, originando efectos secundarios indeseables. Su tolerancia es -- tanto mejor cuanto mas selectiva es su acción sobre el tejido linfoide y cuanto menor sea su actuación a nivel de la médula ósea y de los parénquimas. El ritmo de administración de las drogas es muy importante, pues mientras algunas de ellas (Actinomicina D, Azaserina) tienen una toxicidad acumulativa independiente del número de dosis y dependiente exclusivamente de la dosis total, con otras drogas el efecto tóxico mínimo se obtiene cuando se administran a dosis pequeñas y frecuentes (Ciclofosfamida, 6-mercaptopurina, Azatioprina). (BERENBAUM, 1967) (20).

De un modo mas particular vamos a analizar a continuación las características mas importantes de las principales familias de drogas inmunosupresoras y de sus representantes mas efectivos en inmunidad de trasplante.

a.- Corticoides.- A pesar de su empleo tan difundido, BACH (1971) (8) duda de que a las dosis empleadas en el hombre, en el tratamiento de las enfermedades consideradas como autoinmunes y en los trasplantes de órganos, actúen realmente según un mecanismo inmunosupresor. DURMONT (1970) (76), tambien les considera como inmunodepresores medicores, aunque sean capaces en cierta manera, de actuar sobre la formación de anticuerpos, sobre los fenómenos de hipersensibilidad retardada, injertos de piel, etc.

Su acción se lleva a cabo a diferentes niveles: Inhibición de la fagocitosis y del número de linfocitos sensibles al antígeno durante la fase de inducción de la respuesta inmunitaria; a nivel del arco aferente tienen una acción anticomplemento (GEWURZ et al., 1965) (95), una acción antiinflamatoria - sobre el trasplante y posiblemente sobre las células efectoras (BACH, 1971) (8). Por su acción linfólítica y timolítica reducen hasta en un 30 % el volumen habitual del bazo y del timo, así como los ganglios linfáticos. Por otra parte tambien se ha demostrado un efecto estabilizador de las membranas de los lisosomas y de la síntesis protéica. Sin embargo no se sabe cual de estas múltiples acciones es la mas importante. Quizá su efecto beneficioso en el curso de los trasplantes esté estrechamente ligado a su efecto anti-inflamatorio, mas que a su efecto inmunodepresor.

Su empleo no está exento de riesgos y pueden aparecer efectos secundarios indeseables; Ulcus pépticos, re-

tención salina y osteoporosis (220) y puede favorecer las complicaciones infecciosas. A este respecto parece estar demostrado que los corticoides provistos de un grupo succinato no disminuirían la resistencia del huésped a la infección (DURMONT, 1970) (76).

Es posible que la acción de los corticoides sobre el tejido linfóide, se deba a que al alcanzar estos la circulación general, las células de dicho tejido (células blanco o células diana) atraigan a los corticoides en virtud de una afinidad especial (VIVES MANE, 1969) (291), atravesando la membrana celular gracias a un sistema de permeasas localizado en la misma membrana. Estas permeasas serían específicas para la cortisona y solo la poseerían las células diana. La difusión al interior de la célula ocurre hasta que se establece un equilibrio entre la concentración intracelular y plasmática de la hormona.

En el interior de la célula se acumula en algunos de sus organoides, que actúan como receptores hormonales, especialmente las mitocondrias y los ribosomas. La hormona, que penetra en la célula como cortisona inactiva, en su interior se transforma en cortisol activo, mediante un proceso de reducción catalizado por un enzima cuyo coenzima está representado por el difosfopiridin-nucleótico reducido. Por otra parte el cortisol activo se convierte en cortisona inactiva mediante un proceso de oxidación catalizado por la 11-hidroxidehidrogenasa, cuyo coenzima es el difosfopiridin-nucleótico. Por tanto la concentración intracelular de cortisol depende del sistema óxido-reductor constituido por el difosfopiridin-nucleótico y el difosfopiridin-nucleótico reducido, localizado en el interior de las mitocondrias.

En la célula blanco el cortisol aumenta el catabolismo de las proteínas e inhibe la síntesis proteica; disminuye la oxidación de la glucosa y rebaja la permeabilidad de la misma, al revés que la insulina; disminuye la incorporación de las bases purínicas y pirimidínicas a los ácidos nucleicos, inhibe la síntesis del RNA mensajero e impide la acción de la ribonucleicopolimerasa.

Según CHANG (59) el cortisol, por acción de la 20-cetoreductasa se transforma en 20-b-dihidro cortisona o sustancia U de REICHSTEIN, metabolito del catabolismo del cortisol, que es inactivo. Así pues la actividad del cortisol depende de la mayor-menor actividad de la 20-ceto-reductasa.

En ocasiones células inicialmente sensibles a la acción de los corticoides, por un mecanismo de adaptación enzimática producen una activación de fermentos intracelulares que metabolizan rápidamente el cortisol y le inactivan. En estas circunstancias las células blanco se hacen resistentes a la acción de los corticoides.

b.- Antimetabolitos.— Las drogas que integran este grupo actúan fundamentalmente, sobre la biosíntesis de los componentes de los ácidos nucleicos. Los ácidos nucleicos son polinucleótidos. Cada nucleótido está formado por un nucleósido unido a un grupo fosfato. El nucleósido está integrado por una base nitrogenada (purínica o pirimidínica) unida a un azúcar (ribosa o desoxirribosa). Por este motivo, las drogas capaces de interferir o dificultar la síntesis de las bases nitrogenadas o de los nucleótidos, impiden la normal síntesis de los ácidos nucleicos.

Estas drogas se denominan antimetabolitos y muestran una estructura química similar a la de metabolitos o coenzima fisiológicas, pero lo suficiente diferentes como para desempeñar una acción de inhibición competitiva en los procesos metabólicos.

Los antimetabolitos se clasifican en varios grupos:

i.- Antimetabolitos de las purinas o antipurínicos.- Tienen una estructura similar a la de las purinas fisiológicas, de tal suerte que bloquean la síntesis de las bases purínicas y por tanto de los ácidos nucleicos, especialmente del DNA, o conducen a la síntesis de un DNA normal por incorporación del antimetabolito a la molécula de DNA.

Dentro de este grupo los representantes mas característicos son la 6-Mercaptopurina y la azatiopurina o azatioprina (Imurán, Imurel) derivado imidazólico de la 6-Mercaptopurina y de menor importancia como inmunodepresores la 6-thioguanosina, 8-Azaguanina etc.

ii.- Antimetabolitos de las pirimidinas o antipirimidinicos.- Interfieren la síntesis de los nucleótidos de la pirimidina por un mecanismo similar a los del grupo anterior. Existen numerosos productos, sobre todo halogenados, con escasa utilización como inmunodepresores. Entre ellos cabe citar el 5-Fluorouracilo, 5-Bromouracilo, 5-Bromodesoxiuridina, 6-Azauracilo, 6-Azatimina, 5-Iododesoxiuridina, 5-Iododesoxicitidina, etc.

iii.- Antifólicos.- El ácido fólico o ácido pteroglutámico es una vitamina indispensable en la síntesis de los ácidos nucleicos para lo cual debe transformarse en su forma activa, representada por el ácido fólico o factor citrovorum (ácido 5-formil 5-6-7-8-tetrahidropteróil-glutámico).

Los agentes que se estudian bajo este epígrafe impiden el paso del ácido fólico a ácido folínico y quizá también actúen por acción competitiva directa con el ácido folínico (SALVA LACOMBE, 1970) (240).

Los representantes más característicos de este grupo son la Aminopterina (ácido 4-aminopteróil-glutamico) y su derivado la Ametopterina (Methotrexate).

Sin duda, de entre los antimetabolitos, los más utilizados en la clínica de trasplantes son la 6-Mercaptopurina, la Azatioprina y el Methotrexate.

Los antimetabolitos de las purinas (6-Mercaptopurina) y Azatioprina), son los inmunodepresores más utilizados, por ser los más manejables y los más eficaces en el momento actual, constituyendo el tratamiento de base de la mayor parte de los alo-trasplantes.

Su acción inmunodepresora se debe a la actuación de metabolitos intermediarios fundamentalmente para lo que es necesaria una buena función hepática. El modo de acción de estos agentes es discutido, pero no actúan o tienen escasa acción si se administran cuando las divisiones celulares han comenzado pues uno de los mecanismos defendidos para explicar su poder inmunodepresor es la inhibición de la proliferación celular durante la fase central de la respuesta inmunitaria y la inhibición de la síntesis de anticuerpos (BERENBAUN, 1965) (19). Sin embargo algunos autores como BACH (8), creen que también inhiben el reconocimiento del antígeno por los linfocitos, habiendo demostrado que las células medulodependientes, productoras de anticuerpos, son menos sensibles a la acción de los antimetabolitos.

8

c.- Agentes alquilantes. Son drogas que poseen la propiedad común de poder incorporar --

restos alquílicos sobre los átomos de nitrógeno de las bases purínicas o pirimidínicas del DNA, lo que altera su estructura y dificulta su duplicación, impidiendo la formación de RNA. Fundamentalmente su acción se lleva a cabo sobre las moléculas de guanina formando puentes entre las situadas en cadenas paralelas (280). Su acción recuerda a la de los rayos x y por este motivo los agentes alquilantes también se denominan radiomiméticos.

Dentro del grupo de los agentes alquilantes se pueden establecer tres subgrupos:

- i.- Beta-cloroetilaminas, que comprende las mostazas nitrogenadas y sus derivados: Ciclofosfamida (Genoxal, Endoxan), Clorambucil, Melfalan, Coriolisina, etc.
- ii.- Etiléniminas, cuyos representantes más importantes son el T.E.M. (trietilénmelamina) y el Tiotepa.
- iii.- Esteres sulfónicos, cuyo representante más genuino es el Busulfán.

Todos estos productos se utilizan como citostáticos en el tratamiento de afecciones malignas, pero también tienen propiedades inmunodepresoras. En este campo el más manejable es la ciclofosfamida, que es el mejor inmunosupresor en el ratón (BACH, 1971) (8) si bien se emplea poco en clínica humana como inmunosupresor. BACH (8) refiere un caso de trasplante renal tratado exclusivamente con ciclofosfamida por mala tolerancia del enfermo a la Azatioprina, por lo que su empleo como inmunodepresor no debe -- relegarse al olvido.

d.-Antibióticos.- Muchos de ellos solamente son inmunodepresores a dosis tóxicas, por lo que son difícilmente manejables.

La Azaserina, es un antibiótico obtenido de un "Streptomices" que se comporta como antagonista de la glutamina la cual suministra grupos amínicos en la síntesis de las purinas.

La Mitomicina C, obtenida del "Streptomyces caespitosus", depolimeriza el DNA y evita su duplicación. También parece actuar a nivel del RNA impidiendo la síntesis de proteínas.

Las Actinomicinas, también obtenidas de varios "Streptomyces", tienen cierto interés clínico. Todas ellas pertenecen al grupo de los cromopéptidos, con un grupo cromóforo cromín (actinocina) que las da el color amarillo-rojizo que poseen, y una proteína variable de unas actinomicinas a otras. La actinomicina C es una mezcla de isómeros. La actinomicina D o meractinomicina forma complejos con el DNA, impidiendo su duplicación.

La puromicina se obtiene del "Streptomyces alboniger" y bloquea la síntesis de proteínas, por combinarse con los péptidos en formación en el ribosoma lo que impide la formación de proteínas completas.

El Cloranfenicol inhibe la síntesis proteica in vivo, disminuyendo la síntesis de anticuerpos y prolongando la supervivencia de injertos cutáneos. Al parecer su acción se debe a que interfiere con la función del m-RNA impidiendo la formación de poliribosomas.

Recientemente (ONO et al., 1972) (214), se ha comprobado la mayor eficacia de un derivado metil-sulfonado del cloramfenicol, el thiamfenicol, consiguiendo supervivencias tres veces mayores que con el cloramfenicol en injertos experimentales de corazón.

e.- Mitogenéticos.- Los mitogenéticos de origen vegetal, sobre todo la Fitohe^{ma}glutina, conocida por su acción estimulante en los cultivos de linfocitos, está dotada de acción inmunodepresora comprobada experimentalmente en el ratón (MARKLEY et al. 1969) (164), en el perro (SOLASSOL et al., 1971) (258), en el conejo, (RICHTER y MANDL, 1967) (237), disminuyendo además las infecciones que surgen como complicación a la terapia inmunodepresora.

f.- La l-Asparaginasa, utilizada en el tratamiento de las leucemias agudas, también es un agente inmunodepresor, tanto de las reacciones humorales como celulares pero es hepatotóxica.

Se trata de un fermento que desdobla la l-asparagina componente de la mayor parte de las proteínas, en ácido aspártico y amoníaco, por lo que en las células metabólicamente muy activas, con grandes necesidades de l-asparagina, frena la síntesis proteica.

g.- Las ribonucleasas (MOWBRAY, 1967) (203), que constituyen el producto activo de una fracción alfa-glubulínica del suero, constituyen agentes inmunosupresores notables.

h.- Otros agentes inmunodepresores.- Se ha -
demostrado el poder inmu-

nodepresor de las hidrazinas, de los alcaloides de la Vinca (vinblastina, vincristina), del ácido ϵ -amino-aminocaprico (ZUSKOSKI et al., 1965) (305) como inhibidor del complemento, de la Indometacina, etc.

Las complicaciones surgidas con el empleo de drogas inmunosupresoras, independientemente de los efectos secundarios de los corticoides, ya reseñados, son fundamentalmente:

- a.- La infeccion, que es una de las complicaciones mas graves, puede ser devida a bacterias, virus, etc.
- b.- Complicaciones hepáticas, observadas sobre todo, en los tratamientos con Azatioprina.
- c.- Hipoplasia medular, bien estudiada recientemente por KÖLLER (142) en el tratamiento inmunosupresor con Azatioprina, puntuando los signos de alarma y las medidas mas convenientes en cada caso.
- d.- Tambien ha sido descrito un efecto teratógeno en algunos inmunodepresores. (6-Mercaptopurina, Azatioprina), así como la presentación de abortos.
- e.- La acción cancerígena de los inmunodepresores, aunque parece ser escasa, tambien debe ser conocida.

Quizá estas sean las complicaciones mas frecuentes y mas importantes, por lo que en los individuos sometidos a un tratamiento inmunodepresor debe establecerse una vigilancia periódica para diagnosticar precozmente su presencia y tratarlas adecuadamente. Esta

vigilancia es muy importante, pues la mortalidad despues de los alotrasplantes, en muchas ocasiones se debe a la aparicion de estas complicaciones , mas que al rechazo, en sí, y es el tributo que debemos pagar a una terapéutica inmunosupresora, eficaz pero no exenta de riesgos. Por este motivo se estudian numerosas drogas para llegar a descubrir nuevos fármacos, con la misma o mayor eficacia que los actuales pero sin su toxicidad, al mismo tiempo que se investigan nuevos métodos para conseguir una inmunosupresión mas perfecta.

2.- Otros procedimientos.- La dieta pobre en piridoxina, experimentalmente, prolonga

la supervivencia de aloinjertos, (PEREZ TAMAYO et al.,) (219), e incluso la hipoproteinemia y la inanición puede favorecer la induccion de un estado de tolerancia. Sin embargo, las consecuencias catastróficas que pueden derivarse de tales procedimientos hacen poco recomendable su empleo.

Tambien, experimentalmente, se ha estudiado la influencia de varias clases de shock sobre la supervivencia de injertos cutáneos en ratones (MARKLEY et al., 1971) (165). El shock de los quemados previo al injerto aumenta la supervivencia de los trasplantes realizados en áreas quemadas y sanas. El mismo efecto se obtuvo con el shock del torniquete y el shock producido por inyeccion intraperitoneal diaria de polisacarido de Escherichia coli, mientras que en el shock hiperosmolar, por inyeccion intraperitoneal de glucosa hipertónica, la supervivencia de los aloinjertos cutáneos es similar a la de los animales testigos.

Los estudios sobre la inmunosupresion con virus, han cobrado cierta actualidad (15). La rubeola es capaz -

de negativizar la reacción tuberculínica y también se ha observado el mismo fenómeno tras la vacunación contra la rubeola. El mismo hecho sucede "in vitro": En presencia del virus de la rubeola los linfocitos de un individuo alérgico a la tuberculina en cultivo no sufren la transformación blástica frente al antígeno.

Los resultados experimentales comunicados por investigadores rumanos (15); la inmunización del receptor de un injerto de piel con virus de vacuna produce un rechazo acelerado del mismo. Sin embargo la inmunización del receptor con antígeno de adenovirus tipo 3 duplica la supervivencia de injertos cutáneos y tiene escaso efecto sobre trasplantes renales, que prolongan su supervivencia cuando se inmuniza el receptor con antígenos de adenovirus tipo 12.

Algunos virus oncogénicos para el ratón también han demostrado su efecto inmunodepresor cuando se administran antes que el antígeno (DORMONT, 1970) (76).

También algunas bacterias (*hemophilus pertussis*, bacilos paratíficos A y B y algunos componentes del citoplasma de estreptococos del grupo A) (76) pueden tener efecto inmunodepresor cuando se administran inmediatamente antes o después del antígeno, pues cuando se administran varios días antes que el antígeno producen una exaltación de las reacciones inmunitarias.

En el cerdo el alotrasplante hepático, sin emplear tratamiento inmunodepresor alguno, puede alcanzar grandes supervivencias (CALNE, 1969) (39). Si se trasplantan simultáneamente el hígado y piel procedentes de un mismo donante, el rechazo de esta últi-

ma se retrasa notablemente y el hígado no se rechaza. En el trasplante simultáneo de hígado y riñón, procedente del mismo donante los resultados son aún mas duraderos. De estos hechos puede deducirse que el alotrasplante hepático en el cerdo, se comporta como un agente inmunosupresor cuando al mismo tiempo se trasplanta la piel o los riñones procedentes del mismo donante, sin que sea necesaria ninguna medicación.

c.- Métodos biológicos.- Tales métodos pueden dividirse en dos grupos: Deplección linfocitaria

y deplección proteica.

1.- Deplección linfocitaria.- Se han empleado diversos procedimientos para conseguirla:

a.- Esplenectomía.- Tiene influencia sobre el rechazo de aloinjertos. En 1968, PIERCE

y HUME (223) han revisado el resultado de la esplenectomía en los trasplantes renales humanos y han llegado a la conclusión de que no mejora el resultado de un primer trasplante, aunque puede disminuir la incidencia del rechazo agudo después de un segundo, tercero o cuarto trasplante, si bien no tiene efecto sobre rechazos hiperagudos.

b.- Drenaje del conducto torácico.- Sus efectos, tras una duración media de doce días han sido

revisados recientemente por REVILLARD (232). Produce una disminución moderna e inconstante de linfocitos; aumento de monocitos, con aparición de algunas formas atípicas y un aumento de la actividad fagocitaria de los mismos; disminución y eventualmente negativización de reacciones cutáneas de hipersensibilidad retardada frente a diversos antígenos; el

resultado sobre la prolongacion de aloinjertos es variable. Tiene la ventaja de ser un procedimiento inocuo y es una buena fuente de células para la obtencion de suero antilinfocítico.

Cuando se interrumpe el drenaje, la recuperación del número de linfocitos en el ratón, cuya linfopenia es mucho mas acentuada que en el hombre, se produce en menos de tres semanas, por lo que el drenaje del conducto torácico tiene un efecto parcial y pasajero. (PEREZ TAMAYO) (219).

c.- Timectomía neonatal.-

Sus aplicaciones son casi exclusivamente experimentales, obteniéndose una disminución en las respuestas inmunológicas celulares fundamentalmente. Los animales de experimentación muestran una linfopenia, tendencia a enfermedades consuntivas ("Wasting disease"), mayor susceptibilidad a las infecciones, deplección linfocitaria de las áreas timo-dependientes de los órganos linfoides secundarios, etc.

d.- Timectomía en la edad adulta.-

Es mucho menos eficaz y no sirve como medida inmunosupresora única, aunque puede ser útil para reforzar el efecto de otras medidas inmunosupresoras. En el hombre se ha utilizado en los trasplantes renales, sin que aporte resultados beneficiosos (GROTH, 1969) (109).

En otro lugar se revisan mas ampliamente las consecuencias de la timectomía.

e.- Extirpacion de otros tejidos linfoides.-

Dada la gran ubicuidad del tejido linfoide, tiene un efecto poco marcado sobre los linfocitos circulantes y es

casa aplicacion práctica.

f.- Suero antilinfocítico (S.A.L.).- Se trata de un inmunosupresor que destruye los

linfocitos.

En 1956, INDERBITZIN (132), demostró las propiedades inmunosupresoras del S.A.L. al obtener con su empleo una supresión de la reacción tuberculínica. En 1961 WAKSMAN (293), obtiene una inhibición de las reacciones de hipersensibilidad retardada mediante la administración de S.A.L. Sin embargo los trabajos fundamentales sobre el S.A.L. se deben a WOODRUFF y ANDERSON, en 1963 (298), al obtener una mayor supervivencia de injertos cutáneos en ratas cuando se emplea este producto, obtenido al inmunizar conejos con linfocitos del conducto torácico de la rata. Después otros muchos autores demostraron experimentalmente su eficacia en homotrasplantes (WOODRUFF, 1969) (301) e incluso en heterotrasplantes de piel (LANCE y MEDWAR, 1968) (143).

El S.A.L. también disminuye la formación de anticuerpos humorales, aunque su efecto es menos marcado que sobre los fenómenos inmunológicos de mediación celular, (JAMES y ANDERSON, 1967) (135), siendo todavía menor su efecto en la respuesta inmune secundaria.

En la clínica humana ha comenzado a usarse en trasplantes renales con STARZL (264), TRAEGER (278) y WOODRUFF (300) y después su empleo se ha extendido a otras clases de trasplantes.

El S.A.L. utilizado en los trasplantes humanos, se prepara inmunizando al caballo con linfocitos humanos obtenidos del conducto torácico (TRAEGER 1970) (279), del timo, de la sangre periférica,

del bazo o de los ganglios linfáticos. Generalmente se prepara al caballo con múltiples inyecciones intradérmicas o subcutáneas de células linfoides y un mes después se le inyecta una gran cantidad de células por vía intravenosa; a los tres y seis meses de la primera inmunización se obtiene sangre del caballo y se separa el suero. Pero estos sueros no solo contienen anticuerpos antilinfocitos, sino también anticuerpos anti-glóbulos rojos y antiplaquetas principalmente, que es necesario eliminar mediante procedimientos variados de adsorción y purificación (PICHLMAYR, 1969) (222). De este modo se obtienen globulinas antilinfocitarias y en la actualidad se separa fundamentalmente la IgG, que es la verdadera activa.

La actividad inmunodepresora del S.A.L., se valora mediante una serie de test "in vivo" e "in vitro", recientemente publicados por REVILLARD (233).

El S.A.L. se administra por vía intramuscular profunda, menos dolorosa que la subcutánea. Se puede administrar, para evitar el dolor, por vía intravenosa, pero se corre el riesgo de reacciones anafilácticas graves y de lesiones renales por complejos antígeno-anticuerpo formados en el torrente circulatorio. Esta última posibilidad inicialmente no debe presentarse cuando se administra un S.A.L. libre de anticuerpos contra las proteínas séricas, pero puede aparecer más tarde si el receptor forma anticuerpos contra el S.A.L. (WOODRUFF, 1969) (301).

Tras una inyección única de S.A.L., se produce una disminución importante pero transitoria de los linfocitos sanguíneos. Los efectos de la administración repetida son más variables; en general se produce una linfopenia más persistente, pero que termina por desaparecer, lo cual se debe a la formación en el receptor de anticuerpos anti-S.A.L. La linfopenia puede prolongarse durante mucho más tiempo si antes de administrar el S.A.L., el animal receptor se ha hecho tolerante a las protei

nas del animal dador del suero (FRIES, 1970) (91).

La acción sobre los centros linfoides varia en función del animal estudiado, del tipo de suero utilizado y de la duración del tratamiento. En general, se observa una proliferación de células reticulares, blásticas y plasmocitos que traduce una reacción celular contra la proteína extraña del S.A.L., y junto a esta proliferación celular una disminución de linfocitos en las áreas timo-dependientes: Región paracortical de los ganglios linfáticos y periarteriolar del bazo.

Desde el punto de vista de su acción inmunodepresora el S.A.L., actúa sobre la reacción inmunológica humoral inhibiendo o retardando la formación de anticuerpos si se administra antes que el antígeno, pero no tiene actividad frente a la respuesta inmunitaria secundaria.

Como el S.A.L. es un suero heterólogo, los animales tratados se inmunizan contra las proteínas extrañas, incluso aunque se administren como IgG puras, lo que explica la disminución progresiva de la actividad inmunodepresora de los sueros. Estos anticuerpos contra las proteínas extrañas son los responsables de reacciones anafilácticas o de enfermedades viscerales del tipo de la enfermedad del suero. Este hecho depende en gran manera de las dosis de S.A.L. utilizadas: Con grandes dosis se inactivan o destruyen todas las células capaces de producir anticuerpos, mientras que con dosis mas pequeñas se provoca la formación de anticuerpos por las células anticuerpo-formadoras que permanecen activas.

Sobre la respuesta inmunitaria de tipo celular, el S.A.L. tiene una gran influencia : Produce un

retraso o abolicion de las reacciones cutáneas de hipersensibilidad retardada, aumenta la supervivencia de los injertos cutáneos experimentales, retrasa el fenómeno de segundo aloinjerto e incluso se prolonga el rechazo de xenoinjertos. También puede disminuirse o abolirse la reacción injerto-contra-huesped tratando al donante o al receptor con S.A.L. e incluso puede inducirse un estado de tolerancia específica. (MONACO, 1971) (196).

Por otra parte el S.A.L., puede ser un remedio terapéutico útil en enfermedades autoinmunes experimentales (encefalomielitis alérgica del cobaya, poliartritis por adyuvante de FREUND de la rata, anemia hemolítica del ratón NZB) (FRIES 1970) (91) o humanas, tales como la oftalmía simpática, esclerosis en placas, artritis reumatoide, dermatomiositis, esclerodermia, glomerulonefritis proliferativa subaguda etc., si bien existe poca experiencia al respecto (TRAEGER, 1970) (279).

Sin embargo el empleo de S.A.L. no está exento de inconvenientes, tales como:

- Dolor y eritema en el lugar de la inyección, que se acompaña de hipertermia a las cuatro o seis horas de la misma. Estos incidentes se atenúan tras la segunda semana de tratamiento y pueden minimizarse administrando pequeñas dosis de cortisona o antihistamínicos.
- Shock anafiláctico.- Se presenta inmediatamente después de la inyección y requiere la administración rápida de corticoides.
- Trastornos de la coagulación y sobre todo trombopenia. Son raros cuando se emple S.A.L. preparado con linfocitos del conducto torácico y mucho más frecuentes cuando se emplean linfocitos sanguíneos en la preparación del suero.

-Toxicidad renal.- Las lesiones renales pueden producirse por dos mecanismos: Glomerulonefritis por anticuerpos antimembrana basal o glomerulonefritis por fijación de complejos antígeno-anticuerpos. En el primer caso, existiría una antigenicidad cruzada entre los linfocitos y la pared glomerular, depositándose las proteínas de caballo en los capilares glomerulares. En el segundo caso la administración de proteínas heterólogos origina la formación de anticuerpos y los complejos antígeno-anticuerpos circulantes se fijan sobre la pared de los capilares glomerulares. Estos hallazgos son mas frecuentes en el campo experimental que en el hombre, sobre todo cuando se administra el S.A.L. por via intravenosa (TRAEGER, 1970) (279).

-Aparición de tumores.- Es un hecho demostrado experimentalmente, pero se trata de un problema común a las terapéuticas inmunosupresoras prolongadas. Carece de efectos teratogénos.

-Favorece las infecciones víricas al disminuir la respuesta celular.

Respecto a la via de administración, dosis, ritmo duración del tratamiento, etc. existen grandes diferencias de criterio entre los diferentes autores.

Para explicar el mecanismo de acción del S.A.L. se han propuesto diversas teorías:

-Depleción linfocitaria: Sin embargo el efecto inmunosupresor del S.A.L. no depende exclusivamente del grado de linfopenia que produce, si bien es cierto que los sueros desprovistos de actividad citotóxica carecen de efecto inmunodepresor.

- Teoría del enmascaramiento de los linfocitos : Los anticuerpos anti-linfocito recubrirían los linfocitos impidiendo el reconocimiento del antígeno. Sin embargo los fragmentos de anticuerpo que conservan la propiedad de linfo-aglutinación son incapaces de impedir la respuesta inmunológica.

-Teoría de la competencia antigénica: Los anticuerpos del S.A.L. se comportarían como un antígeno fuerte, de tal suerte que las células linfoides serían reclamadas por este antígeno y serían incapaces de responder al estímulo procedente de otro antígeno.

-Teoría de la activación estéril: Está basada en el hecho de que el S.A.L. puede originar una hiperplasia linfoide con aparición en sangre periférica de células blásticas y sobre todo porque "in vitro" el S.A.L. es un potente agente estimulador. En virtud de esta acción, el S.A.L. transformaría los linfocitos en células blásticas, incapaces de responder a nuevos estímulos antigénicos. Recientemente se ha demostrado el papel inmunodepresor de la fitohemaglutinina, que "in vitro" se comporta como un agente estimulante inespecífico.

-Actualmente se tiende a admitir que los anticuerpos anti-linfocito tienen una acción selectiva frente a los linfocitos timo-dependientes (BACH 1971) (8), lo que explicaría que el S.A.L. tenga acción inmunosupresora sin que exista una linfo-

penia estable, ya que estos linfocitos timo-dependientes tienen una vida larga y son menos abundantes que los linfocitos que se fabrican diariamente y no intervienen en el arco aferente de la acción inmunológica.

Así pues la célula blanco del S.A.L. sería el linfocito timo-dependiente, portador de un antígeno específico en su superficie y contra el que iría dirigida una cantidad importante de anticuerpos antilinfocitarios, que originarían su destrucción en presencia del complemento o lo que parece --- mas probable su opsonización, facilitando la fagocitosis de los mismos por los macrófagos.

g.- Los anticuerpos contra el sobrenadante de cultivos de linfocitos sensibilizados, en presencia del antígeno específico, utilizados recientemente por FALK et al (1971) (82), han demostrado ser un buen procedimiento para prolongar la supervivencia de aloinjertos cutáneos en la rata. Tales autores han demostrado que el antisuero contra el sobrenadante tiene una capacidad inmunosupresora selectiva considerable.

2.- Deplección proteica.- Produce una depresión de la reactividad inmunológica humoral y una discreta prolongación de la supervivencia de aloinjertos. Sin embargo los procedimientos encaminados a conseguir la no son recomendables.

En la actualidad, con el fin de modificar la inmunidad de trasplante se emplean fundamentalmente, tres de los procedimientos enumerados:

1.- Selección adecuada del mejor donante.

2.- Inmunodepresion por drogas, empleando sobre todo la Azatioprina y los corticoides.

3.- Suero antilinfocítico heterólogo.

Mediante el empleo de estas medidas inmunodepresoras el trasplante es tolerado por el receptor durante un tiempo mas o menos largo, hasta que llega un momento en que, a pesar de suprimir la inmunosupresión, el rechazo del órgano trasplantado no se produce. Experimentalmente se ha demostrado, con aloinjertos cutáneos, que cuando se consigue la supervivencia prolongada del mismo por las medidas inmunodepresoras adecuadas, llega un momento en que el injerto es tolerado, aunque se supriman tales medidas que bloquean la reacción inmunológica del receptor. Si en estas circunstancias se realiza un segundo aloinjerto cutáneo procedente del mismo donante, se produce el rechazo acelerado del mismo, no observandose ningún cambio en el primer aloinjerto.

El fenómeno se conoce con el nombre de "adaptación" del aloinjerto al receptor y para explicarle se han sugerido varias posibilidades:

- 1.- Sustitucion de las células endoteliales vasculares del aloinjerto por células endoteliales del receptor (PICHLMAYR, 1969) (222).
- 2.- Modificación genética del alotrasplante, semejante a las transformaciones bacterianas (PEREZ TAMAYO et al. 1978) (219).
- 3.- Algunos autores (PICHLMAYR) (222) creen que el fenómeno de "adaptación" es en realidad un estado de tolerancia inmu-

CAPITULO III

MATERIAL Y METODOS

1.- ANIMALES.- El trabajo experimental fué --
realizado en cobayas proceden-
tes de dos criaderos diferen-
tes, de pelo de diversos colo-
res, de ambos sexos, de peso individual de 500 gra-
mos aproximadamente (foto nº 1), sometidos a las
mismas condiciones ambientales y de alimentacion.

Se utilizaron 48 animales, que fueron distribuidos
en seis series de ocho animales. La mitad de cada --
una de las series procedía de un criadero, a fin --
de evitar consanguinidad.

2.- METODO.- A cada uno de los animales se le prac-
ticaron dos injertos de piel total, de
1,5 por 1,5 cm. , en los flancos del --
abdomen, que se fijaron con puntos --
suellos de sutura, en número de ocho a diez para --
cada injerto, para lo cual se utilizó seda negra --
atraumática nº 00 con aguja triangular TB 15. Los
injertos no fueron cubiertos con ningún tipo de --
apósito (KLAUE y JOHLEY, 1971) (141), (FALK et al
1971) (82), lo que permite una inspeccion diaria --
sin necesidad de levantar y poner nuevos apósitos
que pueden interferir la biología del injerto.

En el flanco derecho del animal sistemáticamente se
aplicó un autoinjerto con piel obtenida del flanco --
izquierdo del mismo animal, y el lecho de este lado
se cubrió con un homo o aloinjerto procedente del --
flanco derecho de otro animal, perteneciente a la --
otra mitad de la serie, y por tanto procedente de un

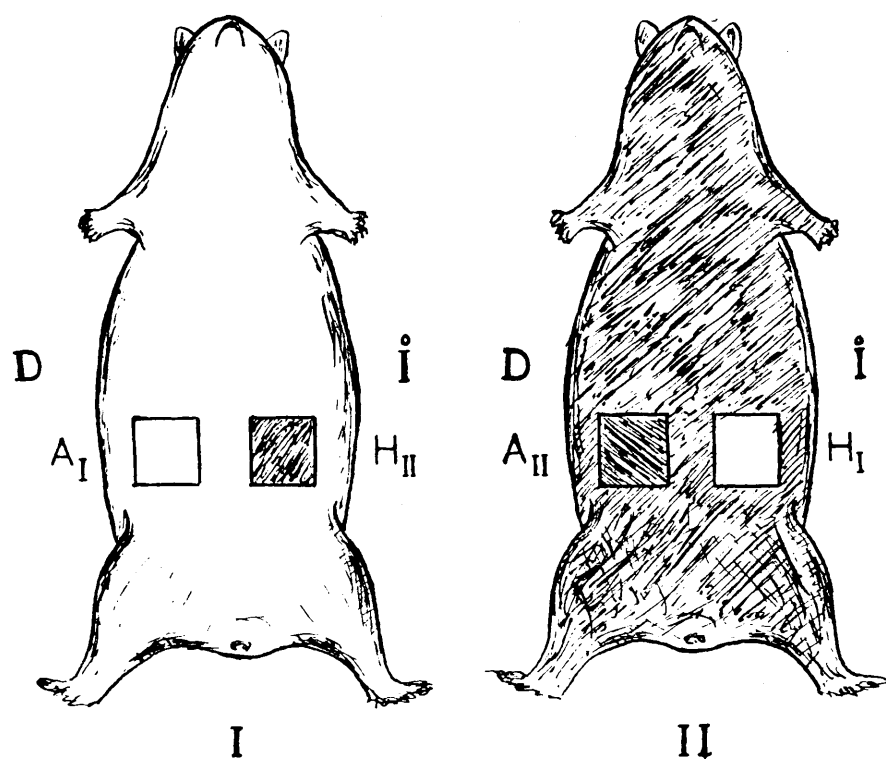


FIGURA 8

criadero diferente al del primer animal. En este segundo animal el lecho del flanco derecho fué cubierto con un autoinjerto procedente de su flanco izquierdo y el lecho de este fué cubierto con un homoinjerto con piel procedente del flanco derecho del primer animal.

La obtención y aplicación de los injertos se hizo en condiciones de rigurosa asepsia, bajo anestesia general utilizando a este fin anestésicos por inhalación con éter. Los animales fueron sujetos a la mesa de operaciones por las cuatro extremidades, en posición de decúbito supino, rasurando las zonas a injertar.

Los injertos, tanto el autoinjerto como el homoinjerto, se obtuvieron con bisturí y sistemáticamente se emplearon injertos de piel total.

El modo de proceder queda enquetizado en la fig. 8 y el resultado inmediato en las fotografías números...3, 4, 9, 10, 24, 25, 26, 27, 28 y 29.

En todos los casos se procuró aparear los animales que mostraban mayores diferencias de color entre sí, para hacer mas demostrativos los injertos.

Cada pareja de cobayas trasplantados entre sí, al finalizar los injertos, fueron metidos en una misma jaula durante el primer mes siguiente a la intervención. Después del primer mes todos los miembros de una misma serie fueron metidos en una jaula común, siendo vigilados diariamente durante un mes mas como mínimo.

Cada una de las series de animales, recibió a lo largo de la experiencia una medicación diferente, a fin de observar la influencia de las diferentes drogas sobre el rechazo de los aloinjertos.

Serie 1.- (Casos nº 1 a 8).- Los animales de esta serie no recibieron medicación alguna y fue considerada como serie testigo.

Serie 2.- (Casos nº 9 al 16).- Los animales integrantes de esta serie fueron tratados con 6-metil-prednisolona (Urbason soluble Hoechst) administrada por vía intramuscular en el cuarto trasero.

Las dosis utilizadas fueron de 1 mg diario en dosis única durante los dos primeros días, lo que representa 2 mg/Kg. de peso y día, y después de 0,5 mg. diario (1 mg/Kg de peso y día) durante tres días más. La primera dosis se administró en el momento de realizar los trasplantes cutáneos y se mantuvo el tratamiento con corticoides durante 15 días.

Serie 3.- (Casos nº 17 al 24).- Los animales de esta serie fueron tratados con heparina sódica (Heparina Rovi al 1 %) por vía subcutánea

(GARCIA-SANCHO, 1969) (94), realizando las inyecciones con una aguja muy fina en el tejido adiposo de la mitad inferior del abdomen (ARTAZA ANDRADE, 1969) (4). Las dosis utilizadas fueron de 1 mg diario en dosis única (2 mg/K de peso y día). La primera dosis fue administrada inmediatamente después de terminar los trasplantes y se mantuvo la misma dosis durante ocho días seguidos.

La idea de utilizar heparina para evitar el rechazo de aloinjertos la tomamos del "Curso de Perfeccionamiento sobre los Trasplantes de Organos" (Lyon Mayo 1970) con las comunicaciones de MAURISASCO (171) y LESKI (149), recogidas por TOURAINE (277) sobre trasplantes renales humanos y los trabajos de MYBURG et al. (1969) (205 bis) y de FRIES (1971) (92) a pesar de la comunicacion de HANSEN et al. en 1962 (136) de que la heparina intravenosa en terneras aumenta la concentraci3n de linfocitos en el conducto torácico, hecho que no pudo ser confirmado por GOWANS y KNIGHT en 1964 (103).

Serie 4.- (Casos n2 25 al 32).- Los animales de esta serie recibieron como medicacion Azatioprina (Imurel Gayoso-Wellcome) por via oral. Como los comprimidos que nos fueron suministrados venian dosificados en 100 mg. por comprimido, cada uno de estos fue pulverizado y homogeneizado con lactosa distribuyendo el producto en papelillos, conteniendo cada uno de ellos 2 mg de Azatioprina. La dosis administrada fue de 2 mg. diarios (4mgr/Kg de peso y dia) durante quince dias seguidos. La primera dosis fue administrada inmediatamente despues de realizar los injertos. El contenido del papelillo era vaciado en la boca del animal que lo degluti facilmente.

Serie 5.- (Casos n2 33 a 40).- Los animales de esta serie fueron tratados con Ametopterina (Methotrexate Lederle) - administrada por via intramuscular en el cuarto trasero. Las dosis empleadas fueron de 0,05 mg (0,1 mg/Kg de peso y dosis), tres veces por semana, recibiendo cada animal un total de 6 dosis (0,3 mg). La primera dosis fue administrada en el momento de realizar el trasplante cutáneo.

Serie 6.- (Casos nº 41 a 48).- Los animales integrantes de esta serie fueron tratados con Ciclofosfamida (Genoxal Funk), administrada por vía intramuscular en el cuarto trasero. Las dosis empleadas fueron de 10 mg. cada 10 días (20 mg/Kg de peso y dosis), recibiendo cada animal de la serie dos dosis en total (20 mg). Las inyecciones de Ciclofosfamida se acompañaron de la administración de hialuronidasa (Kinaden Schering) a dosis de, aproximadamente, 45 U.I. por inyección, antes de administrar el inmunodepresor. La primera dosis fue administrada inmediatamente antes de realizar los injertos cutáneos.

X
in
50
5
dic

Dosificación de los productos utilizados.- Para inyectar los fármacos - empleados se usó una jeringa de las utilizadas en insulino-terapia.

Para dosificar los productos se procedió del siguiente modo:

- a.- Metil-Prednisolona (Urbason soluble Hoechst).- Se utilizaron los envases comerciales conteniendo 8 mg. de metil-prednisolona que fueron disueltos en 2 ml. de disolvente, de tal suerte que 0,25 ml. corresponden a 1 mg. de producto activo, dosis administrada durante los dos primeros días, y 0,125 ml corresponden a 0,5 mg. que fue la dosis administrada en días sucesivos.
- b.- Heparina (Heparina Rovi al 1 %).- Del preparado comercial al 1 % se administró 0,1 ml - por dosis que corresponde a 1 mg. de heparina sódica.

- c.- Azatioprina (Imurel Gayoso- Wellcome).- Los comprimidos del preparado comercial, que contienen 100 mg. de producto activo fueron pulverizados y homogeneizados con lactosa. El producto resultante fue envasado en papelillos, conteniendo cada uno de ellos 2 mg de Azatioprina.
- d.- Ametopterina (Methotrexate Lederle).- Los envases comerciales contienen 50 mg de producto activo, que fueron disueltos en 20 ml de agua destilada: 1 ml de esta "solucion madre", que contiene 2,5 mg. de Ametopterina por ml, fue diluido en 4 ml de agua destilada, obteniendose una "solucion hija" que contiene 0,5 mg/ml. De esta solucion hija se administran 0,1 ml (que contiene 0,05 mg. de Methotrexate) por cada dosis.
- e.- Ciclofosfamida (Genoxal Funk).- Los envases comerciales contienen 200 mg. de producto activo que fueron disueltos en 10 ml de agua bidestilada: 1 ml de la solucion obtenida contiene 20 mg. de Ciclofosfamida, por lo que 0,5 ml, que fue la dosis administrada a cada animal, contiene 10 mg. del producto activo. Las inyecciones de este producto fueron precedidas de la administracion de:
- f.- Hialuronidasa (Kinadén Schering), en el lugar de la inyección. Las ampollas comerciales des este producto contienen 350 U.I., que se disuelven en 2 ml. de disolvente (solucion al 0,9 % de cloruro sódico). La dosis administrada a cada animal fue de 0,25 ml de solucion, que corresponden a 43,75 U.I. (aproximadamente 45 U.I. de hialuronidasa).

C U A D R O N^o 5

SERIE	MEDICACION	DOSIS Y RITMO DE ADMINISTRACION.	N ^o DE DOSIS	DOSIS TOTAL POR ANIMAL	VIA DE ADMINISTRACION
1					
2	6-Metil- Prednisona (Urbason soluble Hoechst).	2mg/Kg de peso so y día, 2 primeros días, 1mg/Kg de peso y día, días sucesivos.	15	8,5 mg.	Intra- muscu- lar.
3	Heparina só- dica. (Hepa- rina Rovi al 1 %)	2mg/Kg de peso y día.	8	8 mg	Subcu- tánea.
4	Azatioprina (Imurel Gayo- so-Wellcome).	4mg/Kg de pe- so y día.	15	30 mg.	Oral
5	Ametopterina (Methotrexate Lederle)	0,1mg/Kg de peso y dosis 3 veces/semana	5	0,3 mg.	Intra- muscu- lar
6	Ciclofosfamida (Genoxal Funk)	20mg/Kg. de pe- so y dosis 1 vez/10 días.	2	20 mg.	Intra- muscu- lar.

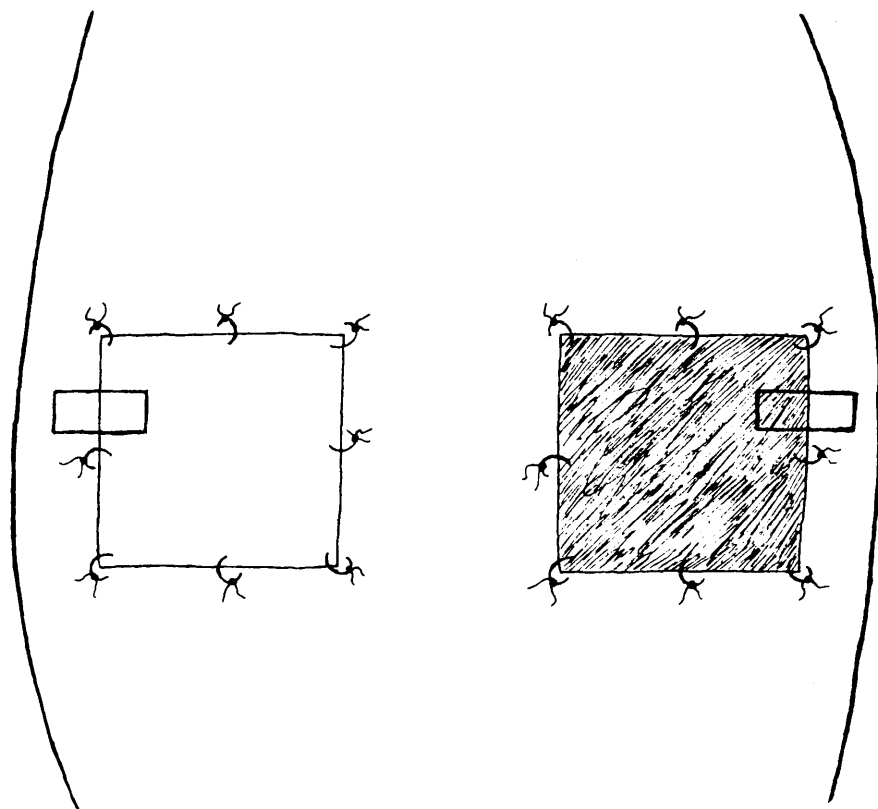
El esquema de la dosificación, ritmo de la misma etc., queda expuesto en el cuadro nº 5.

Definición del rechazo.— El aloinjerto cutáneo se ha considerado rechazado siguiendo el criterio de KLAUE y JOLLEY (141), — cuando el injerto ha sido totalmente expulsado o destruido, determinando este momento mediante la inspección visual diaria del trasplante. Otros autores, como KALK, HANCOCK y LANGER (82) consideran rechazado el injerto cuando existe destrucción de más de la mitad del área del trasplante.

En aquellos casos en que se produjo el que denominamos "rechazo en dos tiempos" (ver mas adelante), a efectos de evaluación del tiempo de rechazo del injerto, hemos considerado como tal el tiempo transcurrido entre la aplicación del trasplante y el desprendimiento de su epitelio.

Estudio Histopatológico.— Los animales trasplantados fueron biopsiados — periodicamente tanto en el lado del autoinjerto como en el lado del aloinjerto. En las biopsias se obtuvo, utilizando bisturí, piel del animal receptor y piel del injerto, con sus respectivos lechos, y zona de unión de ambas según la figura 9 y el resultado puede observarse en las fotos nº .. 49 y 50.

Las biopsias fueron realizadas sistemáticamente a los 3, 7 y 12 días contados a partir de la fecha de realización de los injertos, en todas las series, y en algunos animales en otros plazos de tiempo — (además de los días elegidos como fijos), tales como 1, 2, 9, 15 etc. como queda reflejado en el cuadro cronológico de las biopsias (cuadro 6).




 BIOPSIA

FIGURA 9

CUADRO NO 6

BIOPSIAS CUTÁNEAS (63)

SERIE 1 (11)		SERIE 2 (10)		SERIE 3 (14)		SERIE 4 (10)		SERIE 5 (6)		SERIE 6 (11)	
Días	Auto Alo	Días	Auto Alo	Días	Auto Alo	Días	Auto Alo	Días	Auto Alo	Días	Auto Alo
3	X	X	1	(X)	(X)	2	(X)	(X)	3	(X)	(X)
7	X	X	3	X	X	3	X	X	7	X	X
9	X	X	7	X	X	7	X	X	12	X	(X)
11	-	(X)	9	X	X	9	(X)	(X)	12	X	X
12	X	X	12	X	X	12	X	X	19	(X)	(X)
17	(X)	(X)				15	(X)	(X)			
						30	(X)	(X)			

En un animal no incluido en ninguna de las series, se hizo el estudio histológico de la piel

○ Corresponden a biopsias de animales fallecidos.

○ Corresponden a aloinjertos desprendidos espontáneamente.

A los animales que por algún motivo fallecieron les fue practicada la autopsia extirpandoles sistemáticamente, además del aloinjerto y autoinjerto, el bazo y suprarrenales y en algunos de ellos el timo. De acuerdo con los hallazgos de la autopsia, también fueron estudiados anatomopatológicamente otros órganos, como hígado o pulmón. -----
(Cuadro nº 7).

Las biopsias cutáneas y órganos obtenidos fueron fijados en formol al 10%, que pertenece al grupo de fijadores por reticulización de las proteínas (BURCK, 1969) (35). La relación entre el volumen de la pieza a fijar y fijador, fue como mínimo ----- de 1/20, pues se tuvo en cuenta el consumo de fijador durante la fijación. El material fijado en formol puede conservarse durante años, aunque el fijador utilizado tiene el inconveniente de contraer y endurecer los tejidos.

Las piezas conservadas en formol fueron "talladas" con cuchilla de afeitar o bisturí, e incluidas en parafina. Posteriormente fueron cortadas con un microtomo de deslizamiento y a continuación fueron montadas.

Los cortes fueron teñidos con la técnica de la hematoxilina-eosina (BURCK, 1969) (35), quedando los núcleos celulares y las bacterias granpositivas coloreadas en azul por la hematoxilina y los citoplasmas celulares, fibras colágenas y eritrocitos, en rojo por la eosina.

Las ventajas fundamentales de este método son su sencillez y la brevedad de los tiempos de coloración y constituye un buen procedimiento para estudios de conjunto.

CUADRO NO 7

MATERIAL DE NECROPSIAS (38)

BAZO (10)	SUPRARR. (10)	TIMO (7)	PULMON (3)	HIGADO (4)	MUSCULO (1)
1 dia serie 2	1 dia serie 2				
2 dias serie 3	2 dias serie 3	2 dias serie 3			
3 dias serie 4	3 dias serie 4	3 dias serie 4			3 dias serie 4
9 dias serie 3	9 dias serie 3	9 dias serie 3			
15 dias serie 3	15 dias serie 3	15 dias serie 3	15 dias serie 3		
15 dias serie 6	15 dias serie 6	-----	-----	15 dias serie 6	
16 dias serie 6	16 dias serie 6			16 dias serie 6	
17 dias serie 1	17 dias serie 1	17 dias serie 1			
19 dias serie 4	19 dias serie 4	19 dias serie 4	19 dias serie 4	19 dias serie 4	
30 dias serie 3	30 dias serie 3	30 dias serie 3	30 dias serie 3	30 dias serie 3	
En animales no incluidos en ninguna de las series, se hizo el estudio histológico de bazo, suprarrenal y timo					

Fotografías.— Fueron obtenidas en días sucesivos, en los distintos animales, sometidos a diferentes terapéuticas. Los detalles de los injertos fueron obtenidos utilizando lentes de aproximación.

Las microfotografías fueron obtenidas en un fotomicroscopio II de la casa CARL ZEISS.

Tanto las microfotografías como las fotografías han sido obtenidas en color.

El color y sexo de donantes y receptores de los injertos, distribuidos por series, queda reflejado en los cuadros 8, 9, 10, 11, 12 y 13. En aquellos casos en que el animal tiene varios colores de pelo, el indicado en primer lugar es el predominante.

En el cuadro nº 14 queda esquematizada la relación entre los casos y el sexo, y la distribución de los sexos del donante y del receptor, dentro de cada serie y en conjunto.





CUADRO NO 8

SERIE 1 (Sin medicacion)				
Caso NO	Sexo	Color del pelo	Color Autoinjerto	Color Homoinjerto
1 X	♀	Negro	Negro	Blanco
2	♀	Blanco	Blanco	Negro
3 X	♂	Negro	Negro	Blanco
4	♂	Blanco	Blanco	Negro
5 X	♀	Negro y Canela Blanco	Canela	Blanco
6	♂	Blanco y Pardo	Blanco	Negro
7 X	♀	Negro y Canela Blanco	Canela	Blanco
8	♀	Blanco y Pardo	Blanco	Negro





CUADRO NO 9

SERIE 2 (6-Metil-Prednisolona)				
Caso NO	Sexo	Color del pelo	Color Autoinjerto	Color Homoinjerto
9 X	♂	Negro y Blanco	Negro	Blanco
10	♂	Blanco y Canela	Blanco	Blanco y Canela
11 X	♂	Canela	Canela	Blanco
12	♀	Blanco	Blanco	Canela
13 X	♂	Negro y Jaspeado	Jaspeado	Blanco
14	♀	Blanco	Blanco	Negro
15 X	♀	Blanco y Negro	Negro	Blanco
16	♀	Blanco	Blanco	Blanco





CUADRO NO 10

SERIE 3 (Heparina)				
Caso NO	Sexo	Color del pelo	Color Autoinjerto	Color Homoinjerto
17 	♂	Blanco y Canela	Blanco	Blanco
18	♂	Blanco y Canela	Blanco	Blanco
19 	♀	Canela	Canela	Blanco
20	♀	Blanco	Blanco	Canela
21 	♀	Negro	Negro	Blanco
22	♀	Blanco	Blanco	Negro
23 	♂	Canela	Canela	Blanco
24	♀	Blanco	Blanco	Canela





CUADRO NO 11

SERIE 4 (Azatioprina)				
Caso NO	Sexo	Color del pelo	Color Autoinjerto	Color Homoinjerto
25 	♂	Canela	Canela	Blanco
26	♀	Blanco	Blanco	Canela
27 	♀	Blanco y Negro	Negro	Blanco
28	♀	Blanco	Blanco	Blanco
29 	♀	Blanco y Canela	Canela	Blanco
30	♂	Blanco	Blanco	Blanco
31 	♀	Blanco Canela y Negro	Blanco	Blanco
32	♂	Blanco y Canela	Blanco	Blanco

CUADRO N^o 12

SERIE 5 (Ametopterina)				
Caso N ^o	Sexo	Color del pelo	Color Autoinjerto	Color Homoinjerto
33 	♂	Negro	Negro	Blanco
34	♂	Canela y Blanco	Blanco	Negro
35 	♂	Negro	Negro	Blanco
36	♀	Blanco	Blanco	Negro
37 	♂	Negro	Negro	Blanco
38	♀	Blanco	Blanco	Negro
39 	♂	Negro	Negro	Canela
40	♀	Canela y Blanco	Blanco	Negro

C U A D R O N O 13

SERIE 6 (Ciclofosfamida)				
Caso n ^o	Sexo	Color del pelo	Color Aloinjerto	Color Homoinjerto
41 	♂	Canela	Canela	Canela
42	♀	Canela y Blando	Blanco	Canela
43 	♂	Negro	Negro	Blanco
44	♂	Blanco y Canela	Blanco	Negro
45 	♀	Negro y Blanco	Negro	Blanco
46	♀	Blanco y Canela	Canela	Negro
47 	♀	Canela	Canela	Blanco
48	♀	Blanco y Canela	Blanco	Canela

CUADRO NO 14

SERIE		SEXO DE DONANTE Y RECEPTOR	NO DE CASOS		NO TOTAL DE CASOS POR SEXO
SERIE 1 (8)	IGUAL	Macho--Macho	2	6	Machos 3
	SEXO	Hembra--Hembra	4		
	SEXO OPUESTO	Macho--Hembra	2	2	Hembras 5
SERIE 2 (8)	IGUAL	Macho--Macho	2		Machos 4
	SEXO	Hembra--Hembra	2	4	
	SEXO OPUESTO	Macho--Hembra	4	4	Hembras 4
SERIE 3 (8)	IGUAL	Macho--Macho	2		Machos 3
	SEXO	Hembra--Hembra	4	6	
	SEXO OPUESTO	Macho--Hembra	2	2	Hembras 5
SERIE 4 (8)	IGUAL	Macho--Macho	0		
	SEXO	Hembra--Hembra	2	2	Machos 3
	SEXO OPUESTO	Macho--Hembra	6	6	Hembras 5
SERIE 5 (8)	IGUAL	Macho--Macho	2		Machos 5
	SEXO	Hembra--Hembra	0	2	
	SEXO OPUESTO	Macho--Hembra	6	6	Hembras 3
SERIE 6 (8)	IGUAL	Macho--Macho	2		Machos 3
	SEXO	Hembra--Hembra	4	6	
	SEXO OPUESTO	Macho--Hembra	2	2	Hembras 5
TOTAL (48)	IGUAL	Macho--Macho	10		Machos 21
	SEXO	Hembra--Hembra	16	26	
	SEXO OPUESTO	Macho--Hembra	22	22	Hembras 27

CAPITULO XII

RESULTADOS OBTENIDOS.- Se exponen en cinco apartados:

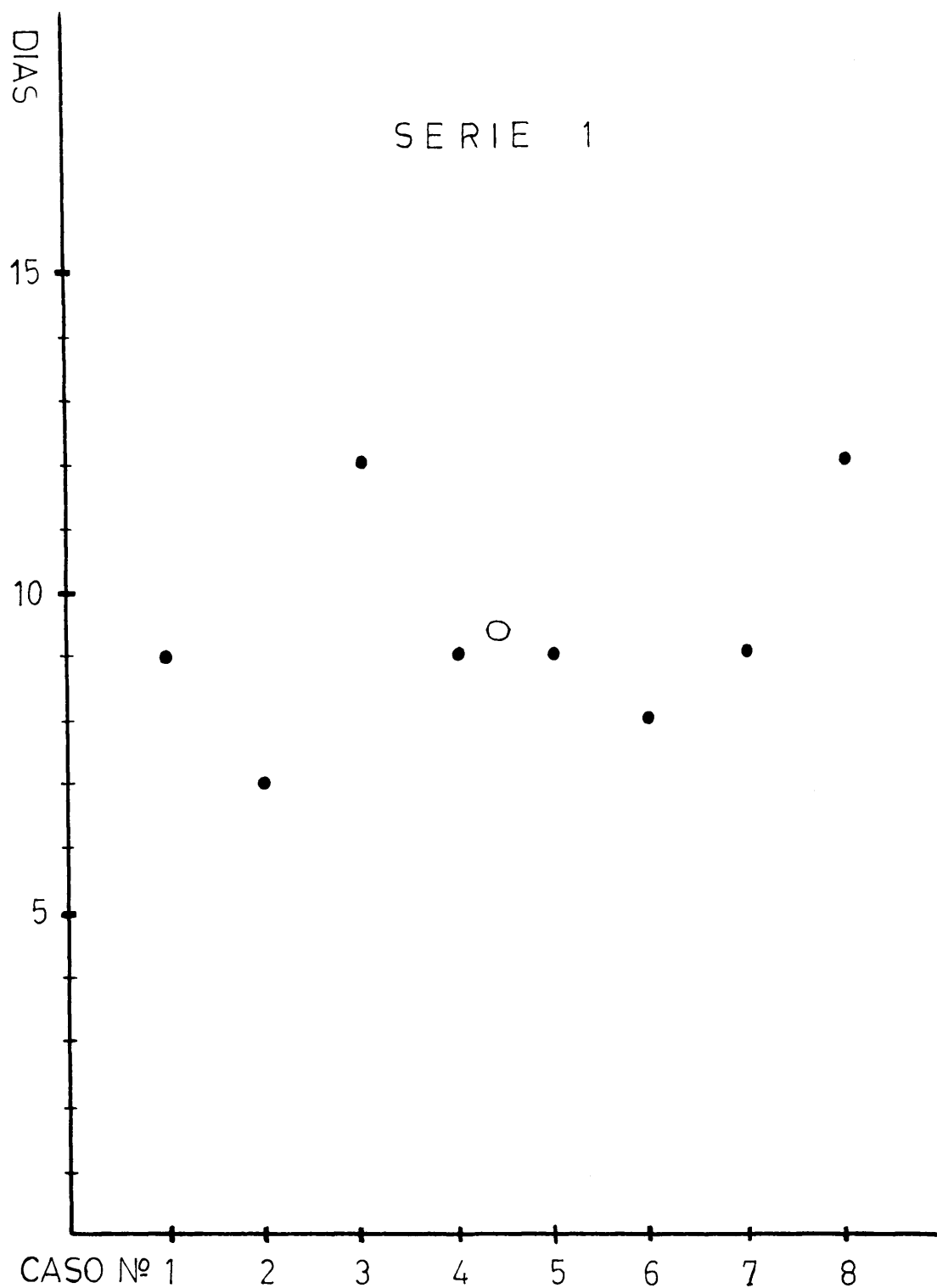
- I.- Hallazgos morfológicos.
- II.- Hallazgos histopatológicos.
- III.- Efectos secundarios y complicaciones.
- IV.- Hallazgos macroscópicos en las necropsias.
- V.- Otras observaciones.

I.- Hallazgos morfológicos:

A.- Homoinjertos.

Serie 1.- En esta serie la supervivencia media de los homoinjertos (dias transcurridos desde la implantacion del homoinjerto hasta el rechazo del mismo), ha sido de 9,38 dias, con un tiempo mínimo de 7 dias y un tiempo máximo de 12 dias. La supervivencia de cada uno de los injertos, individualmente considerados, queda reflejada en la gráfica 1.

La mayor supervivencia del homoinjerto obtenida en esta serie fue de 12 dias correspondiendo a los casos nº 3 y 8. Revisando el cuadro nº 15 se observa que el caso nº 3, fue un macho que recibió el homoinjerto del caso nº 4, tambien macho, y el caso nº 8, fue una hembra que recibió el homoinjerto del caso nº 7, del mismo sexo. En ambos casos de mayor supervivencia, el --



○ Supervivencia media (9,38 dias)

GRAFICA Nº 1

donante fue del mismo sexo que el receptor.

CUADRO NO 15

SERIE 1			
CASO NO	SEXO	COLOR PREDOMINANTE	SUPERVIVENCIA DEL HOMOINJERTO (días)
1 X	♀	Negro	9
2 X	♀	Blanco	7
3 X	♂	Negro	(12)
4 X	♂	Blanco	9
5 X	♀	Negro	9
6 X	♂	Blanco	8
7 X	♀	Negro	9
8	♀	Blanco	(12)

CUADRO Nº 16

SERIE 1	SEXO	DIAS
SUPERVIVENCIA MEDIA DEL HOMOIÑJERTO SEGÚN EL SEXO DEL RECEPTOR	Machos (3)	9,66
	Hembras (5)	9,20

El tiempo de supervivencia media del injerto fue superior en los machos que en las hembras (cuadro Nº 16).

CUADRO nº 17

SERIE 1	COLOR	DIAS
SUPERVIVENCIA MEDIA DEL HOMOIÑJERTO SEGÚN EL COLOR DEL PELO RECEPTOR.	Blanco (4)	9
	Negro (4)	9,75

Según el color predominante del pelo, la supervivencia media del homoiñjerto, fue mayor en los animales de pelo oscuro que en los animales de pelo claro. (Cuadro nº 17).

Según el sexo del donante y del receptor, la supervivencia media del homoiñjerto queda expuesta en el cuadro nº 18, de donde parece deducirse que la mejor supervivencia se obtiene cuando donante y receptor tienen el mismo sexo y aún es mayor cuando ambos son machos.

CUADRO NO 18

SEXO	DONANTE-RECEPTOR	SUPERVIVENCIA (dias)	
Igual	Macho-Macho (2)	10,50	9,66
Sexo			
	Hembra-Hembra (4)	9,25	
Sexo	Macho- Hembra (2)	8,50	8,50

O uesto

En las fotos n^o, 4, 6, 8, 9, 12, 14, 16, 20, 25, 28, 30 y 31 pueden observarse diversos aspectos de homoinjertos pertenecientes a esta serie.

SERIE 2.- En esta serie, la supervivencia media de los homoinjertos ha sido de 12 dias, con un tiempo mínimo de 9 dias y un tiempo máximo de 16 dias. La cifra media de supervivencia ha sido obtenida sobre 7 casos de los 8 que componen la serie, ya que uno de ellos (caso n^o 9) murió a las 24 horas de realizar los injertos. Por este motivo se prescinde de este caso al realizar los cálculos.

Las supervivencia de cada uno de los injertos, individualmente considerada, queda reflejada en la gráfica n^o 2.

La mayor supervivencia del homoinjerto obtenida en esta serie fue de 16 dias, correspondiente al caso n^o 16. Al revisar el cuadro n^o 19, se observa que el caso n^o 16, fue una hembra, que recibió el homoinjerto del caso n^o 15, también hembra.

CUADRO NO 19

SERIE 2			
CASO NO	SEXO	COLOR PREDOMINANTE	SUPERVIVENCIA DEL HOMOIINJERTO (dias)
9	♂	Negro	11
10	♂	Blanco	14
11	♂	Canela	10
12	♀	Blanco	9
13	♂	Negro	11
14	♀	Blanco	11
15	♀	Blanco	13
16	♀	Blanco	16

CUADRO NO 20

SERIE 2	SEXO	DIAS
SUPERVIVENCIA MEDIA DEL HOMOIINJERTO SEGUN EL SEXO DEL RECEPTOR	Machos (3)	11,66
	Hembras (4)	12,25

El tiempo de supervivencia media del homoinjerto fue superior en las hembras, que en los machos (cuadro n^o 20).

CUADRO N^o 21

SERIE 2	COLOR	DIAS
SUPERVIVENCIA MEDIA DEL HOMOINJERTO, SEGUN EL COLOR DEL PELO DEL RECEPTOR	Blanco (5)	(12,50)
	Negro (2) Canela	10,50

Según el color predominante del pelo, la supervivencia media del homoinjerto fue mayor en los animales de pelo blanco que en los animales de pelo mas oscuro (canela y negro). (Cuadro n^o 21).

CUADRO N^o 22

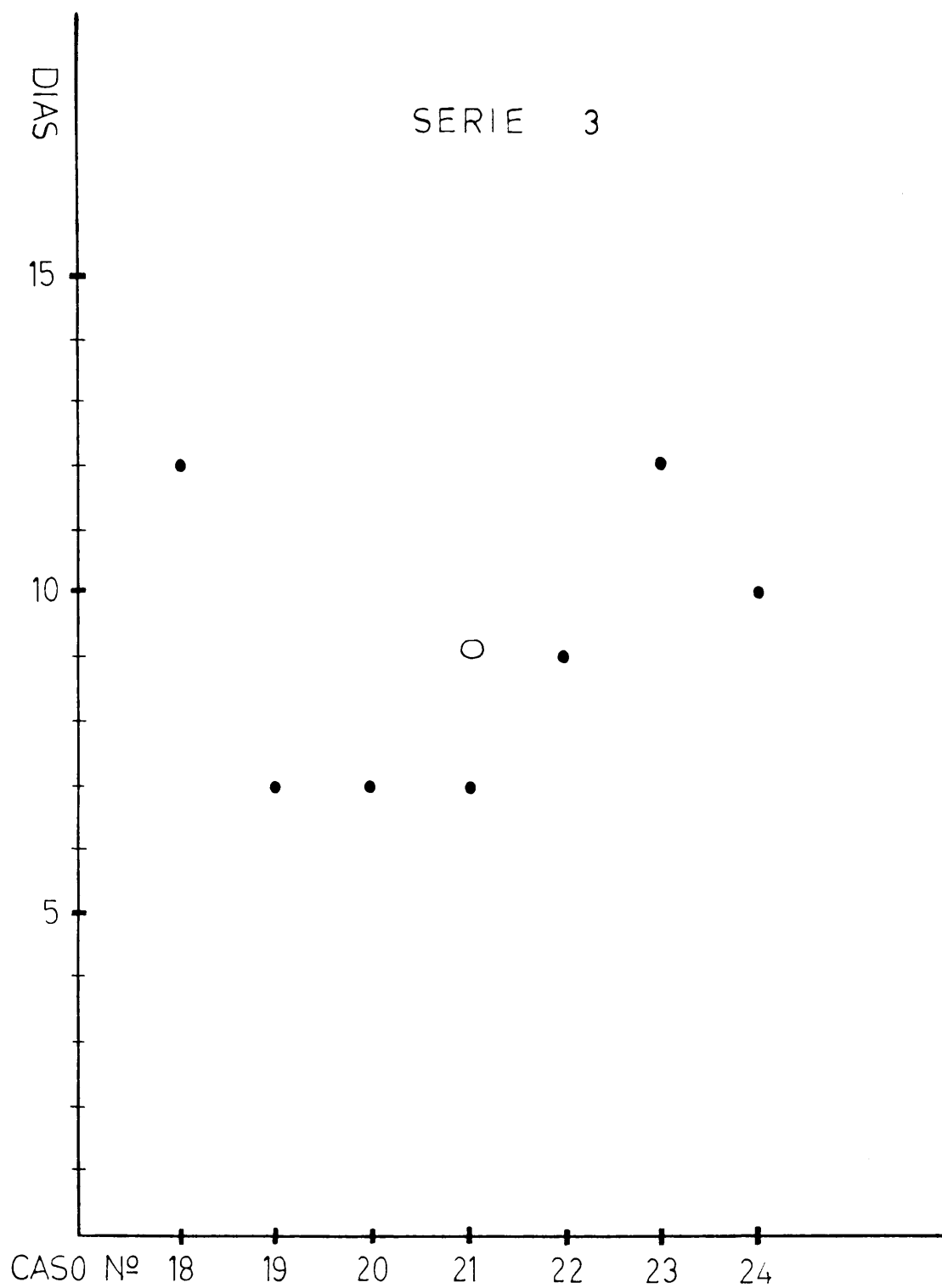
S E R I E	SEXO DONANTE-RECEPTOR		SUPERVIVENCIA (dias)	
	IGUAL SEXO	Macho-Macho (1)	14	(14,33)
		Hembra-Hembra (2)	(14,50)	
2	SEXO OPUESTO	Macho-Hembra (4)	10,25	10,25

Segun el sexo del donante y del receptor, la supervivencia media del homoinjerto queda - expuesta en el cuadro n° 22, de donde parece deducirse que la mejor supervivencia se ob- tiene cuando donante y receptor tienen el mismo sexo y aun es mayor cuando ambos son hembras. En las fotos n° 34, 37, 39, 41, 48, 50 y 52, pueden observarse diversos aspectos de homoinjertos pertenecientes a esta serie.

SERIE 3.- En esta serie la supervivencia media de los homoinjertos ha sido de 9, 14 dias, con un tiempo mínimo de 7 dias y un tiempo máximo de 12 dias. La cifra media de supervivencia ha sido obtenida sobre 7 casos de los 8 que componen la serie, ya que uno de ellos (caso n° 17) murió a los dos dias de realizar los injertos. Por este motivo se prescinde de este caso al realizar los cálculos.

La supervivencia de cada uno de los injertos, individualmente considerada, queda reflejada en la gráfica n° 3.

La mayor supervivencia del homoinjerto obtenida en esta serie, fue de 12 dias correspondiendo a los casos n° 18 y 23. Revisando el cuadro n° 23 se observa que el caso n° 18 fue un macho que recibió el homoinjerto del caso n° 17 tambien macho; y el caso n° 23 fue otro macho que recibió el homoinjerto del caso n° 24, de sexo contrario.



○ Supervivencia media(9,14 dias)

GRAFICA Nº 3

CUADRO NO 23

SERIE 3			
CASO NO	SEXO	COLOR PREDOMINANTE	SUPERVIVENCIA DEL HOMOINJERTO (dias)
17 X	♂	Blanco	-----
18 X	♂	Blanco	(12)
19 X	♀	Canela	7
20 X	♀	Blanco	7
21 X	♀	Negro	7
22 X	♀	Blanco	9
23 X	♂	Canela	(12)
24 X	♀	Blanco	10

CUADRO NO 24

SERIE 3	SEXO	DIAS
SUPERVIVENCIA MEDIA DEL HOMOINJERTO SEGUN EL SEXO DEL RECEPTOR	Machos (2)	(12)
	Hembras (5)	8

CUADRO NO 25

SERIE 3	COLOR	DIAS
SUPERVIVENCIA MEDIA DEL HOMOINJERTO SEGUN EL COLOR DEL PELO DEL RECEPTOR	Blanco (4)	9,50
	Negro Canela (3)	8,66

El tiempo de supervivencia media del homoinjerto fue superior en los machos que en las hembras (cuadro NO 24).

Según el color predominante del pelo, la supervivencia media del homoinjerto, fue mayor en los animales de pelo blanco que en los animales de pelo oscuro (negro y canela) (cuadro no 25).

Según el sexo del donante y el receptor, la supervivencia media del homoinjerto, queda expuesta en el cuadro no 26, de donde puede deducirse que la mejor supervivencia se obtuvo cuando donante y receptor eran machos, la peor cuando donante y receptor eran hembras, y una supervivencia bastante próxima a la máxima, cuando donante y receptor eran de sexo opuesto.

En las fotos no 54, 56, 57 y 61, pueden observarse diversos aspectos de homoinjertos pertenecientes a esta serie.

S E R I E 3	SEXO DONANTE- RECEPTOR		SUPERVIVENCIA (dias)	
	Igual sexo	- Macho-Macho (1)	(12)	8,4
		Hembra-Hembra (4)	7,5	
	Sexo Opuesto	Macho-Hembra (2)	11	(11)

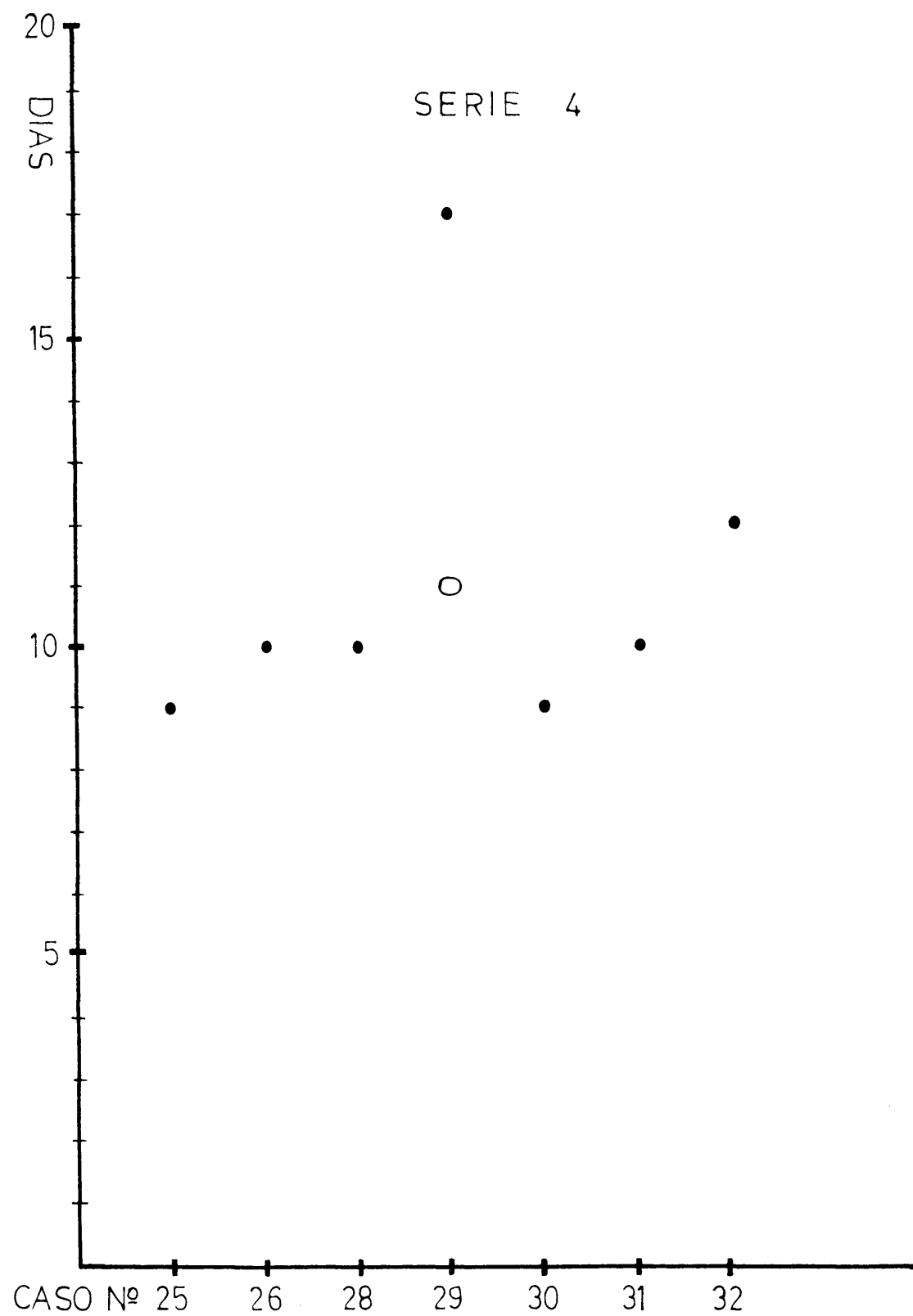
SERIE. 4. En esta serie la supervivencia media de los homoinjertos ha sido de 11 dias, con un tiempo mínimo de 9 dias y un tiempo máximo de 17 dias. La cifra media de supervivencia ha sido obtenida sobre 7 casos de los 8 que componen la serie, ya que uno de ellos (caso n^o 27) murió a los 3 dias de realizar los injertos. Por este motivo se prescinde de este caso al realizar los cálculos.

La supervivencia de cada uno de los injertos, individualmente considerada, queda reflejada en la gráfica n^o 4.

La mayor supervivencia del homoinjerto obtenida en esta serie, fue de 17 dias, correspondiente al caso n^o 29. Al revisar el cuadro n^o 27 se observa que el caso n^o 29 fue una hembra, que recibió el homoinjerto del caso n^o 30, de sexo opuesto.

El tiempo de supervivencia media del homoinjerto fue superior en las hembras, que en los machos (cuadro n^o 28).

Según el color predominante del pelo, la supervivencia media del homoinjerto, fue mayor en los animales



○ Supervivencia media (11 dias)

GRAFICA Nº 4

CUADRO NO 27

SERIE 4			
CASO NO	SEXO	COLOR PREDOMINANTE	SUPERVIVENCIA DEL HOMOIINJERTO (dias)
25 X	♂	Canela	9
26 X	♀	Blanco	10
27 X	♀	Blanco y Negro	---
28 X	♀	Blanco	10
29 X	♀	Blanco y Canela	17
30 X	♂	Blanco	9
31 X	♀	Blanco	10
32	♂	Blanco	12

de pelo mas oscuro (canela, blanco y canela a par-
ter iguales) que en los animales de pelo blanco -
exclusivamente. (cuadro no 29).

Según el sexo del donante y el receptor, la super-
vivencia media del homoiinjerto queda expuesta en
el cuadro no 30 de donde puede deducirse que la --

CUADRO NO 28

SERIE 4	SEXO	DIAS
SUPERVIVENCIA MEDIA DEL HOMOIÑJERTO SEGUN EL SEXO DEL RECEPTOR	Machos (3)	10
	Hembras (4)	11,75

CUADRO NO 29

SERIE 4	COLOR	DIAS
SUPERVIVENCIA MEDIA DEL HOMOIÑJERTO SEGUN EL COLOR DEL PELO DEL RECEPTOR	Blanco puro (5)	10,2
	Canela Blanco y canela (2)	13

mejor supervivencia se obtiene cuando donante y receptor pertenecen a sexos contrarios.

En las fotos n.º. 63, 64, 65, 67, 68, 69 y 70, — pueden observarse diversos aspectos de homoiñjer_{tes} pertenecientes a esta serie.

CUADRO N^o 30

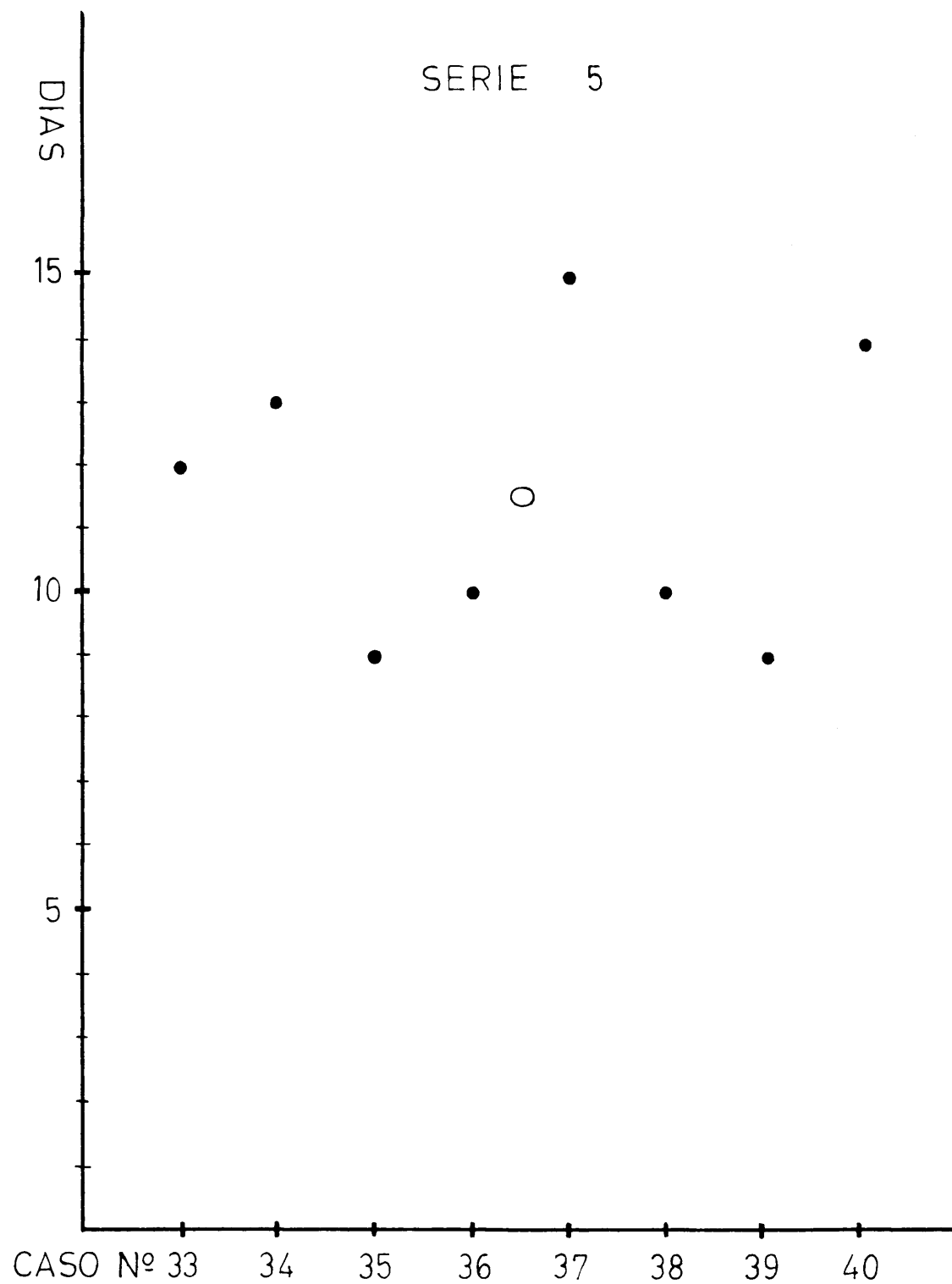
S E R I E 4	SEXO DONANTE-RECEPTOR		SUPERVIVENCIA (días)	
	IGUAL	Macho-Macho (0)	---	10
	SEXO	Hembra-Hembra (1)	10	
	SEXO OPUESTO	Macho-Hembra (6)	11, 17	(11, 17)

SERIE 5. En esta serie la supervivencia media de los homoinjertos fue de 11,5 días con un tiempo mínimo de 9 días y un tiempo máximo de 15 días. La supervivencia de cada uno de los injertos, individualmente considerados, queda reflejada en la gráfica n^o 5.

La mayor supervivencia del homoinjerto obtenida en esta serie fue de 15 días correspondiente al caso n^o 37. Al revisar el cuadro n^o 31, se observa que el caso n^o 37 fue un macho, que recibió el aloinjerto del caso n^o 38, de sexo opuesto.

El tiempo de supervivencia media del homoinjerto fue superior en los machos que en las hembras - (cuadro n^o 32).

Segun el color predominante del pelo del receptor, la supervivencia media del aloinjerto fue mayor en los animales de pelo mas oscuro (canela, negro) que en los animales de pelo blanco (cuadro n^o 33).



○ Supervivencia media (11,5 dias)

GRAFICA Nº 5

CUADRO N^o 31

SERIE 5			
CASO N ^o	SEXO	COLOR PREDOMINANTE	SUPERVIVENCIA (dias) del HOMOIINJERTO
33	♂	Negro	12
34	♂	Canela	13
35	♂	Negro	9
36	♀	Blanco	10
37	♂	Negro	15
38	♀	Blanco	10
39	♂	Negro	9
40	♀	Canela	14

Segun el sexo del donante y del receptor, la supervivencia media del aloinjerto queda expuesta en el cuadro n^o 34, de donde puede deducirse que la mejor supervivencia se obtiene cuando donante y receptor son del mismo sexo y ambos son machos.

En las fotos n^o 84, 85, 88, 91, 92, 94, 96, 97 y 98 - pueden observarse diversos aspectos de homoinjertos pertenecientes a esta serie.

CUADRO N^o 32

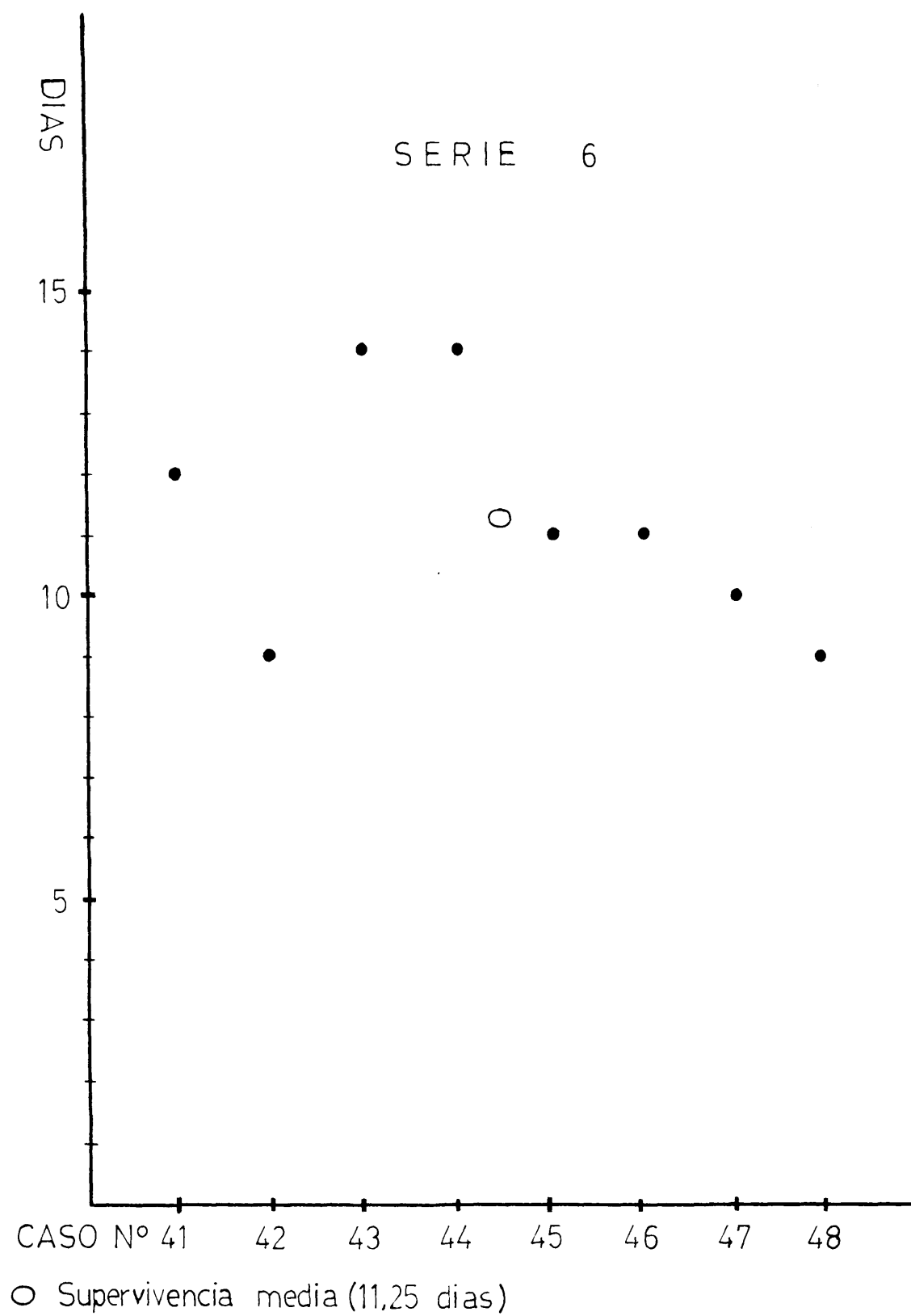
SERIE 5	SEXO	DIAS
SUPERVIVENCIA MEDIA DEL HOMOINJERTO SEGUN EL SEXO DEL RECEPTOR	Machos (5)	11,60
	Hembras (3)	11,33

CUADRO N^o 33

SERIE 5	COLOR	DIAS
SUPERVIVENCIA MEDIA DEL HOMOINJERTO SEGUN EL COLOR DEL PELO DEL RECEPTOR	Blanco (2)	10
	Negro Canela (6)	14,50

SERIE 6.

En esta serie la supervivencia media de los homoinjertos fue de 11,25 días, con un tiempo mínimo de 9 días y un tiempo máximo de 14 días. La supervivencia de cada uno de los injertos, individualmente considerados, queda reflejada en la gráfica n^o 6).



GRAFICA Nº 6

CUADRO NO 34

SEXO DONANTE RECEPTOR			SUPERVIVENCIA (días)	
S E R I E 5	IGUAL	Macho-Macho (2)	(12,50)	(12,50)
	SEXO	Hembra-Hembra (0)	-----	
	SEXO OPUESTO	Macho-Hembra (6)	11,17	11,17

La mayor supervivencia del homoinjerto obtenida en esta serie fue de 14 días que corresponde a los casos nº 43 y 44, ambos machos, y donantes y receptores mutuamente (cuadro nº 35).

CUADRO NO 35

SERIE 6			
CASO NO	SEXO	COLOR PREDOMINANTE	SUPERVIVENCIA (días) HOMOINJERTO
41	♂	Canela	12
42	♀	Canela	9
43	♂	Negro	(14)
44	♂	Blanco	(14)
45	♀	Negro	11
46	♀	Blanco	11
47	♀	Canela	10
48	♀	Blanco	9

CUADRO N° 36

SERIE 6	SEXO	DIAS
SUPERVIVENCIA MEDIA DEL HOMOINJERTO SEGUN EL SEXO DEL RECEPTOR	Machos (3)	13,33
	Hembras (5)	10

El tiempo de supervivencia del homoinjerto fue superior en los machos que en las hembras (cuadro n° 36).

CUADRO N° 37

SERIE 6	COLOR	DIAS
SUPERVIVENCIA MEDIA DEL HOMOINJERTO SEGUN EL COLOR DEL PELO DEL RECEPTOR	Blanco (3)	11,33
	Negro Canela (5)	11,20

Según el color predominante del pelo del receptor, la supervivencia media del aloinjerto fue ligeramente superior en los animales de pelo blanco que en los animales de pelo mas oscuro (negro y canela). (cuadro n° 37).

Según el sexo del donante y del receptor, la supervivencia media del aloinjerto queda expuesta en el cuadro nº 38, de donde puede deducirse que la mejor supervivencia se obtiene cuando donante y receptor son del mismo sexo pero ambos varones, ya que si ambos son hembras, la supervivencia es menor que cuando donante y receptor son de sexo opuesto.

CUADRO Nº 38

S E R I E	SEXO DONANTE=RECEPTOR		SUPERVIVENCIA (dias)	
	IGUAL SEXO	Macho-Macho (2)	14	11,50
		Hembra-Hembra (4)	10,25	
	SEXO OPUESTO	Macho-Hembra (2)	10,50	10,50

En las fotos nº 101, 103, 104, 105, 106, 110, 111 y 115 pueden observarse diversos aspectos de homoinjertos pertenecientes a esta serie.

B.- AUTOINJERTOS.-

Los autoinjertos, llevaron una evolución que podemos considerar como normal en los animales de las series 1 y 5; en los demás animales, su evolución será comentada al discutir los resultados.

La evolución del autoinjerto, fue desfavorable en 11 de 45 animales observados lo que representa el 24,44 % de los casos.

La mayor parte de los injertos perdieron el pelo, pero la cicatrización en la línea de afrontamiento de la piel trasplantada con la piel circundante, fue perfecta. La salida de nuevo pelo en la piel trasplantada ocurrió después de un tiempo variable pero en la mayoría de los autoinjertos, transcurrido un mes, presentaban un pelo similar al de la piel circundante. En las fotografías nº 5, 7, 11, 13, 21, 22, 32, 35, 38, 40, 42, 47, 51, 60, 76, 79, 86, 87, 89, 93, 100 y 102, se muestran diversos aspectos de autoinjertos.

Aquellos casos en que el autoinjerto llevo una evolución desfavorable, por la posible influencia de las drogas administradas, quedan reseñados en el apartado III.

II.~ HALLAZGOS HISTOPATOLOGICOS.~

A.~ HOMOINJERTOS.~

SERIE 1.~ a.~ A los 3 dias.~ En la piel trasplantada ha desaparecido totalmente la epidermis. Al examinar la pieza con el microscopio óptico, la colágena ha perdido su arquitectura, pero si el examen se realiza con luz polarizada se observa que tal apreciación es falsa. La piel que rodea el injerto tiene una estructura normal, sin que se observen infiltrados celulares y únicamente se sorprende algún leucocito polinuclear aislado.

 b.~ A los 7 dias.~ El injerto esta reducido a una masa hialina y en el lecho se observa una infiltracion importante de leucocitos polinucleares y algunas áreas hemorrágicas.

La epidermis de la piel próxima al injerto presenta un acentuado engrosamiento, con escasas mitosis. El dermis presenta una reacción granulomatosa con abundantes células epitelioides, neoformación vascular acentuada y algunos macrófagos y leucocitos polinucleares.

 c.~ A los 12 dias.~ Lo mas llamativo es una infiltracion fibroblastica en el dermis profundo.

En otras biopsias realizadas en tiempos diferentes a los pre-establecidos, el resultado fué:

d.- A los 9 días.— Discreta invasión ---
linfocitaria del dermis próximo ---
al injerto. En el borde y lecho de
este, se observa una gran reacción
granulomatosa, en la que existen escasos linfocitos,
son muy abundantes las células epitelioideas y algo
menos las células gigantes. La epidermis de la piel
próxima al injerto muestra una notable proliferación
con queratina eosinófila. Existe una neoformación
vascular importante y una reacción fibroblástica ---
notable.

e.- A los 11 días.— La epidermis del ---
aloinjerto ha desaparecido por com ---
pleto. El dermis presenta una coláge
na homogénea y existe una intensa ---
infiltración de polinucleares.

f.- A los 17 días.— La epidermis de la
piel próxima al injerto esta discre-
tamente engrosada, con formación de
queratina eosinófila. El dermis es-
tá infiltrado de células mononucleares y presenta ---
una reacción granulomatosa con macrófagos, células
epitelioideas y sobre todo fibroblastos.

SERIE 2.- a.- A los 3 días.— En el injerto ha
desaparecido la epidermis, que ---
aparece sustituida por una ban ---
da basófila. El dermis esta ede
matoso y empieza a desestructurarse la colágena, que
ofrece el aspecto de una masa: eosinófila homogénea.

La piel próxima al injerto no ofrece grandes modifi-
caciones y en el dermis se observan algunos histiocí-
tos y una intensa infiltración de polinucleares, so-
bre todo neutrófilos, y en un menor grado eosinófilos.

b.- A los 7 días.- El injerto aparece casi totalmente necrosado, aunque todavía se observan algunos núcleos celulares en los folículos pilosos.

El dermis de la piel próxima al injerto está infiltrado de eosinófilos, algunos linfocitos y en menor grado polinucleares neutrófilos, observándose algunas colonias de cocos.

El lecho del injerto está constituido por una reacción granulomatosa con células epitelioides y algunas células de cuerpo extraño.

c.- A los 12 días.- El dermis ofrece una intensísima proliferación fibroblástica, células epitelioides abundantes y algunas células gigantes, estando tapizado el lecho del injerto por una epidermis regenerada.

En otras biopsias realizadas en tiempos diferentes a los pre-establecidos, los hallazgos fueron los siguientes:

d.- A las 24 horas.- En el injerto, la epidermis ha desaparecido completamente y en el dermis conserva su arquitectura la colágena.

La epidermis próxima al injerto está muy adelgazada y el dermis muestra una intensa infiltración de polinucleares neutrófilos y gran cantidad de gérmenes (bacterias y cocos).

e.- A los 9 dias.- El dermis del injerto está muy esclerosado e infiltrado por polinucleares neutrófilos, con intensa proliferación de gérmenes (bacterias y cocos).

SERIE 3.-

a.- A los 3 dias.- La epidermis del injerto conserva alguna célula de su capa basal y el resto de la misma esta constituido por una banda basófila. El dermis esta bien conservado y existe una mediana infiltracion de polinucleares neutrófilos y algún linfocito muy escaso.

En la piel próxima al injerto existe una discreta infiltración de linfocitos y pequeñas áreas de extravasación hemática. En el lecho del injerto se observa una infiltración de linfocitos, polinucleares neutrófilos y hematíes.

b.- A los 7 dias.- El injerto está completamente necrosado e infiltrado por cocos y polinucleares (microfotografia Nº 12).

La epidermis de la piel próxima al injerto ha desaparecido y en el dermis se observa una intensísima infiltración de polinucleares neutrófilos, con destrucción de la colágena. En el dermis profundo hay una reacción granulomatosa con células epitelioides.

c.- A los 12 dias.- El dermis próximo al injerto se encuentra infiltrado por células redondas, especialmente linfocitos. El lecho del injerto esta constituido por un tejido de

granulacion rico en vasos y en células epitelioides y con escasos fibroblastos, tapizado casi en su totalidad por un epitelio plano, poilliestratificado, joven, bien constituido. (Microfotografia nº 13).

En otras biopsias realizadas en tiempos diferentes de los pre-establecidos, los hallazgos fueron los siguientes:

d.- A los 2 días. Esta biopsia corresponde a un animal muerto de sepsia. En el aloinjerto, la epidermis ha desaparecido por completo y en el dermis se observan colonias de gérmenes, con infiltración de neutrofilos y linfocitos.

e.- A los 9 días. En la piel - que circunda al injerto, la epidermis esta disminuida en su espesor; en el dermis se observa una infiltración por linfocitos y en su parte mas profunda una reacción granulomatosa con abundantes fibroblastos.

f.- A los 15 días. Sobre el lecho del injerto no existen restos del mismo, excepto algunos pequeños fragmentos necrosados que sirven de asiento a numerosas colonias de gérmenes, con algunos macrófagos y polinucleares, que llegan hasta la serosa peritoneal.

g.- A los 30 días. Se observa una epidermis con tres o cuatro capas de células y queratina basófila. El lecho del injerto está constituido por un tejido conjuntivo joven con abundantes fibroblastos, una gran hemorragia difusa y macrófagos cargados de hemosiderina.

SERIE 4

a.- A los 3 días.- El injerto esta infiltrado intensamente por polinucleares neutrófilos. En el dermis próximo al injerto se observan grandes zonas hemorrágicas con infiltrado de polinucleares neutrófilos.

b.- A los 7 días.- El injerto está necrosado y muestra una intensa proliferación por polinucleares. En el dermis próximo al injerto se observa un infiltrado linfocitario discreto. El lecho del injerto está constituido por un tejido de granulación con células epitelioides, macrófagos y linfocitos en menor cantidad.

c.- A los 12 días.- Se observa una infiltración linfocitaria del dermis próximo al injerto. En el límite entre injerto y piel circundante se observa un acúmulo de fibroblastos que sustentan una epidermis neoformada.

En otras biopsias realizadas a tiempos diferentes de los pre-establecidos los hallazgos han sido:

d.- A los 3 días.- En un animal de esta serie, muerto a los 3 días, se observa una infiltración por polinucleares en el dermis profundo de la piel próxima al injerto y en las capas musculares subyacentes. En el borde y lecho del injerto se observa una intensísima proliferación por polinucleares con dilataciones vasculares y zonas hemorrágicas. El injerto se muestra invadido por numerosas colonias de gérmenes.

e.- A los 19 días.- Existe una escasa epidermis neoformada. El lecho del injerto está formada por un tejido de granulación rico en fibroblastos. En el límite entre el injerto y la piel circundante, se observan múltiples colonias de gérmenes y abundantes macrófagos parasitados por ellas. (Microfotografía nº 17).

SERIE 5

a.- A los 3 días.- El injerto ha perdido la epidermis que aparece sustituida por una banda basófila. El dermis ha perdido su estructura, los núcleos no se ven y el lecho aparece infiltrado por células redondas y fusiformes con núcleo alargado, que pueden corresponder a fibroblastos o linfocitos deteriorados.

El dermis profundo de la piel próxima al injerto está infiltrado por células mononucleares, alguna de las cuales toma el aspecto de células epitelioideas, y fibroblastos. También existen abundantes macrófagos y plinucleares aislados (Microfotografía nº 19 y 20).

b.- A los 7 días.- Existe un discreto infiltrado linfocitario del dermis superficial y una marcada proliferación del epitelio epidermico de la zona próxima al injerto. Existe una escasa reacción granulomatosa con algunas células epitelioideas y macrófagos. El injerto presenta la colágena edematizada en la zona de contacto con la piel del huésped.

c.- A los 12 dias.- El tejido conjuntivo del dermis del huesped muestra zonas de - necrosis, con abundantes - polinucleares en lisis. Reaccion granulomatosa mas intensa y abundante proliferacion fibroblastica en el lecho del injerto.

SERIE 6

a.- A los 3 dias.- El dermis de la piel próxima al injerto es tá muy congestivo mostrando - areas de extravasacion hemática y de infiltracion por células mononucleares.

b.- A los 7 dias.- El injerto a- parece necrosado e invadido - por polinucleares. En el dermis de la piel próxima al injerto se observan algunos linfocitos aislados. La epidermis está muy poco proliferada y la reacción granulomatosa del lecho del injerto es muy escasa.

c.- A los 12 dias.- Existe un - intenso infiltrado por linfocitos en el dermis de la piel próxima al injerto, donde se observan abundantes células epitelioides y células gigantes y en menor número macrofagos y polinucleares neutrofilos. La epidermis está engrosada y - se observan algunas mitosis y queratina eosinófila.

En otras biopsias realizadas en tiempos diferentes a los pre-establecidos, los hallazgos fueron los siguientes:

d.- A los 8 dias.- Hallazgos similares a los descritos a los 7 dias.

e.- A los 15 días.- El lecho del injerto está constituido por un tejido rico en fibroblastos, con abundantes macrófagos cargados de hemosiderina. Existe una escasa epidermis neoformada, que se insinúa en los bordes de la piel del huesped (Microfotografía nº 23).

f.- A los 16 días.- Hallazgos similares a los descritos anteriormente a los 15 días.

B.- AUTOINJERTOS.-

SERIE 1

a.- A los 3 días.- La piel --- próxima al injerto muestra un adelgazamiento de la epidermis en algunas zonas, con intensa basofilia de la capa córnea y en otras se observan algunas mitosis en la capa basal (Microfotografía nº 5). En el dermis superficial se observa un discreto infiltrado de células mononucleares y polinucleares.

En el injerto ha desaparecido por completo la epidermis, que ha quedado sustituida por una banda basófila. El tejido conjuntivo del dermis aparece edematoso pero los haces colágenos conservan bien su estructura.

Las fibras musculares subyacentes presentan un citoplasma homogéneo, eosinófilo y vitreo y están --- hinchadas (degeneración hialina).

Existe una escasa neoformacion vascular.

b.- A los 7 dias.- La epidermis próxima al injerto presenta un marcado engrosamiento, llegando a contarse en algunas zonas hasta 9 capas celulares, con abundantes mitosis y queratina eosinofila (Microfotografias 1, 2, y 3). Debajo de la epidermis neoformada existe un tejido de granulación con intensa neoformacion vascular, macrofagos, celulas epitelioides y algún fibroblasto.

c.- A los 12 dias.- La epidermis se ha perdido casi por completo en el injerto pero el dermis conserva bien la colágena, aunque en parte se ha perdido su aptitud tintorial, observándose núcleos hipocrómicos.

En otras biopsias realizadas en tiempos diferentes, los hallazgos fueron:

d.- A los 9 dias.- El lecho del injerto esta constituido por un tejido de granulación, con abundantes tipos celulares (celulas epitelioides, células gigantes, macrófagos, algunos linfocitos, etc.). Existe una gran neoformacion vascular y una intensa proliferacion fibroblastica. La epidermis de la piel próxima al injerto está muy proliferada y muestra una queratina eosinofila.

e.- A los 17 dias.- El dermis muestra una intensa proliferacion fibroblastica y neoformacion vascular. Sobre el dermis aparece una epidermis neoformada, con cuatro o cinco estratos celulares.

SERIE 2

a.- A los 3 dias.- En el injerto, la epidermis esta reducida a una fina banda basofila, donde se ven algunos núcleos aplanados. El dermis esta edematoso y muestra una intensa infiltracion por polinucleares neutrofilos y eosinofilos en su base.

La piel próxima al injerto muestra una infiltración intensa por el mismo tipo de células. No se observan mitosis en la epidermis, que se insinua debajo del injerto.

b.- A los 7 dias.- El injerto en su porcion limitrofe con la piel del huesped, muestra una reacción inflamatoria con abundantes polinucleares neutrófilos, eosinofilos y linfocitos y algunos macrófagos, así como numerosas colonias de cocos (Microfotografia nº 8).

El dermis de la piel próxima al injerto presenta una infiltracion por eosinofilos y en menor cantidad linfocitos, y una discreta reacción granulomatosa con celulas epitelioides.

c.- A los 12 dias.- El injerto aparece lleno de detritus de polinucleares. La zona de piel proxima al injerto, presenta una reaccion granulomatosa con células epitelioides, macrofagos, algunos linfocitos y celulas gigantes y escasos fibroblastos. La epidermis limitante del injerto muestra un mamelon de crecimiento que se insinua entre el tejido de granulación anteriormente descrito y el injerto.

En otras biopsias, los hallazgos fueron los siguientes:

d.- A las 24 horas.- El injerto muestra una desaparición casi completa de la epidermis de la piel próxima al injerto esta muy adelgazada. El lecho del injerto está infiltrado por polinucleares y las fibras musculares subyacentes muestran una degeneración hialina.

e.- A los 9 días.- El dermis próximo al injerto presenta una discreta invasión linfocitaria y un adelgazamiento de la epidermis. Cierta congestión venosa y escasa reacción granulomatosa son los hallazgos mas importantes.

SERIE 3.

a.- A los 3 días.- En el injerto la capa basal de la epidermis esta bien conservada y el dermis presenta una buena organización de la colágena y conserva los núcleos celulares. (Microfotografía nº 10).

El dermis próximo al injerto presenta una infiltración linfocitaria, dilatación vascular y pequeñas extravasaciones hemáticas. En el límite entre injerto y huesped existe un gran acumulo de polinucleares neutrofilos.

b.- A los 7 días.- En los bordes del injerto, que aparece casi totalmente necrosado, se observa una intensa infiltración por células mononucleares y polinucleares, así como numerosas colonias de gérmenes.

El dermis de la piel próxima al injerto aparece infiltrado por células redondeadas, y algunos ma-

crofagos aislados y polinucleares. La reacción granulomatosa es muy escasa.

c.-A los 12 dias.- En el dermis de la piel próxima al injerto se observa una infiltracion linfocitaria. En el límite entre piel del huesped e injerto, se observa un tejido de granulacion con macrófagos, células epitelioides y fibroblastos. La epidermis no ha proliferado sobre el lecho del injerto, que esta constituido por un tejido de granulacion con las mismas características que el anterior, con un infiltrado por polinucleares en su parte mas superficial.

En otras biopsias realizadas, el resultado fue:

d.-A los 2 dias.- En un animal muerto de sepsis, la epidermis del injerto ha desaparecido casi por completo, y el dermis aparece infiltrado por polinucleares muy abundantes, macrófagos y numerosas colonias de gérmenes.

e.-A los 9 dias.- El dermis próximo al injerto aparece infiltrado por células redondas (linfocitos). El lecho del injerto está constituido por fibroblastos jóvenes y exhibe una intensa vascularizacion, con algunas zonas hemorrágicas (Microfotografia nº 11). De la epidermis que circunda al injerto parten dos lengüetas epidérmicas muy delgadas que tienden a reunirse en el centro, lugar donde permanece adherido el injerto por un istmo conectivo laxo.

f.- A los 15 días.- La epidermis de la piel próxima al injerto es normal. El dermis muestra una infiltración por macrófagos y grandes áreas hemorrágicas. Degeneración hialina de las fibras musculares subyacentes. Se observa una discreta proliferación epidermica en los bordes de la piel. En su profundidad muestra abundantes colonias de gérmenes, con escasa reacción de polinucleares.

g.- A los 30 días.- Se observa una epidermis con tres o cuatro estratos celulares y queratina basofila. En el dermis se observan hemorragias difusas.

SERIE 4

a.- A los 3 días.- En el injerto la epidermis ha desaparecido y esta sustituida por una banda basofila no muy intensa. El dermis está edematoso y se observan algunas zonas de hemorragia y neoformación vascular (Microfotografía nº 16) en el lecho del injerto.

En el dermis de la piel próxima al injerto se observa una vasodilatación con extravasación hemática, así como un discreto infiltrado por neutrófilos y linfocitos.

b.- A los 7 días.- El injerto está parcialmente necrosado y con una intensa proliferación de polinucleares. El dermis de la piel próxima al injerto muestra una infiltración por linfocitos y una discreta reacción granulomatosa con células epitelioides y macrófagos.

c.- A los 12 días.- El dermis próximo al injerto muestra una infiltración por células redondas. El lecho del injerto y la zona de piel próxima presentan una intensa reacción fibroblástica, con abundantes vasos que llegan hasta el injerto, parcialmente necrosado. Por los bordes del injerto se insinúa una yema epitelial que comienza a disecar en el injerto de su base de sustentación.

Los hallazgos en otras biopsias realizadas fueron:

d.- A los 3 días.- El animal de esta serie muerto en este tiempo, en el dermis de la piel próxima al injerto se observaba una infiltración discreta de polinucleares, que era mucho más intensa en el lecho del injerto, donde fueron muy aparentes zonas de hemorragia y de dilatación vascular. El injerto estaba habitado por numerosas colonias de gérmenes.

e.- A los 19 días.- Se observa una epidermis neoformada que asienta sobre un tejido de granulación rico en fibroblastos. En el dermis se observan macrófagos cargados de hemosiderina y hemorragias múltiples y difusas.

SERIE 5

a.- A los 3 días.- En el injerto ha desaparecido la epidermis. El dermis presenta algunos núcleos en degeneración y una discreta infiltración por mononucleares y algún polinuclear.

El dermis de la piel proxima al injerto presenta una infiltracion discreta por celulas mononucleares y escasos polinucleares. La epidermis esta insinuada por debajo del injerto.

b.- A los 7 dias.- Se observa una escasa reaccion granulomatosa en el dermis de la piel proxima al injerto, con algunos linfocitos y celulas epitelioides. El resto no ofrece alteraciones microscopicas de interes.

c.- A los 12 dias.- Los datos mas llamativos son la presencia de un dermis edematoso con infiltrado de linfocitos y eosinofilos y formacion de un tejido conjuntivo joven con fibroblastos, asi como neoformacion vascular.

SERIE 6

a.- A los 3 dias.- El dermis del injerto conserva sus nucleos, aunque la colagena ofrece un aspecto vitreo homogeneo. La epidermis ha desaparecido por completo.

En el limite entre la piel del huesped y el injerto aparece un infiltrado de celulas mononucleares que tratan de entrelazar fibras colagenas de un lado y otro. (microfotografia n° 21).

b.- A los 7 dias.- El injerto aparece parcialmente necrosado e infiltrado por polinucleares. La piel proxima al injerto exhibe una escasa reaccion granulomatosa, con algunas celulas epitelioides, macrofagos y escasos linfocitos aislados.

c.- A los 12 días.- En el dermis de la piel proxima al injerto existe una intensa proliferacion fibroblastica y vascular. La epidermis esta engrosada y con abundantes mitosis en la capa basal, mostrando una queratina eosinofila (Microfotografia n° 22).

En otras biopsias realizadas los hallazgos fueron:

d.- A los 15 días.- El lecho del injerto esta constituido por un tejido rico en fibroblastos, que llegan a englobar formaciones pilosas. Existen tambien abundantes macrofagos cargados de hemosiderina y algunos linfocitos.

e.- A los 16 días.- Hallazgos similares a los del caso anterior.

C.- OTROS ESTUDIOS HISTOLOGICOS E HISTOPATOLOGICOS.

Aprovechando animales sanos muertos durante la anestesia, antes de ser sometidos a acción quirúrgica alguna se estudiaron algunos de los órganos de tales animales como ejemplos de normalidad histológica.

Piel de cobaya.- La epidermis esta constituida por epitelio plano, generalmente con dos o tres estratos celulares y queratina intensamente basofila. Se observan folículos pilosos que llegan hasta el dermis profundo, con glándulas sebaceas.

El dermis esta constituido por un tejido conjuntivo rico en fibras colágenas de disposición rigurosamente ordenada.

Debajo del dermis existe un tejido adiposo (hipodermis).

(Microfotografias nº, 1, 2 y 3).

El bazo (Microfotografia nº 4), suprarrenales y timo -- del animal normal (foto nº 2) son muy similares a los mis- mos órganos humanos, por lo que no se insiste en su as- pecto histológico.

En los órganos procedentes de animales fallecidos en el curso de las experiencias realizadas los hallazgos fueron los siguientes:

SERIE 1

Caso nº 2..- Animal fallecido a los 17 dias. Se estudiaron el bazo, las suprarrenales, y el timo, con hallazgos positivos en el primero de los órganos, donde se encontró un aumento de los linfocitos foliculares y la presencia de numerosos macrófagos cargados de hemosiderina, (Microfotografia nº 7).

SERIE 2.

Caso nº 9..- Animal muerto a las 24 horas. Se obtuvieron las suprarrenales y el bazo para estudio anatomopatológico. En el bazo se descubrió una hiperplasia de los centros germinativos del folículo, encontrándose rodeados de una delgada capa de pequeños linfocitos, de tal suerte que su estructura se me- ja la de un ganglio linfático (Microfotografia nº 9).

SERIE 3.

Caso nº 17..- Animal muerto a los 2 dias. Se estudiaron el bazo, las suprarrenales y el timo, y como unico dato de interés se encontraron -- abundantes macrófagos cargados de hemosiderina en el bazo.

Caso nº 21..- Animal muerto a los 9 dias. Se estudiaron el bazo, las suprarrenales y el timo.

En el bazo se encontraron muchísimos macrofagos cargados de hemosiderina, incluso dentro de los vasos y no se halló aumento en los pequeños linfocitos -- de los folículos linfoides, sino mas bien pobreza de los mismos.

En las suprarrenales, s ño mas llamativo fue la existencia de una congestión venosa, con microhemorragias, tanto medulares como corticales.

Caso nº 19..- Animal fallecido a los 15 días. Se estudiaron el bazo, las suprarrenales, el timo y los pulmones.

En estos se encontró una infiltración hemática reciente de los mismos con inundación de los alveolos. La pared alveolar está engrosada y contiene abundantes macrófagos.

En el bazo se encontró una disminución de linfocitos y un aumento considerable de formas blásticas interfoliculares.

En las suprarrenales se observó una intensa infiltración de células blásticas y células plasmáticas en los capilares y en el intersticio, con algunas mitosis (Microfotografía nº 14 y 15).

Caso nº 24..- Animal muerto al mes. Se estudiaron el bazo, suprarrenales, timo hígao y pulmón. Los hallazgos positivos fueron:

En el bazo una intensa congestión en las suprarrenales hemorragias microscópicas difusas por -

todo el órgano y en el pulmón intensa congestión vascular con áreas de extravasación hemática en el interior de los alveolos; otros alveolos aparecen llenos de un contenido grumoso eosinófilo (edema); la pared alveolar está engrosada con abundantes macrófagos globulosos. En algunas zonas se observan acúmulos focales de polinucleares y dentro de algunos alveolos se observan mononucleares y eosinófilos. El diagnóstico histopatológico es de bronconeumonía confluyente.

SERIE 4.

Caso nº 27 Animal fallecido a los 3 días. Se estudiaron el bazo, suprarrenales, timo y piel y músculos de la pared torácica y del cuello.

En el bazo se encontró una intensa congestión venosa, con hiperplasia de los centros germinativos de los folículos linfoides.

En las suprarrenales se observaron pequeñas extravasaciones hemáticas en la cortical.

En la piel y músculos del tórax y cuello, el aspecto es visiblemente igual al descrito en la observación d.- al descubrir en la serie 4 el aspecto microscópico del autoinjerto y de homoinjerto; Intensa proliferación de gérmenes y polinucleares.

Caso nº 28.- Animal muerto a los 9 días. Se estudiaron el bazo, suprarrenales, timo, hígado y pulmón.

En el pulmón se observan zonas distintas: Una de ellas con abundante exudado en el interior de los alveolos,

otra con hematies y otra con macrófagos y linfocitos. Existen pequeñas colonias bacterianas sembradas de forma difusa por todo el pulmon.

En el hígado se observa una degeneracion grasa (Microfotografia nº 18). Los hepatocitos próximos a la vena central muestran una gran vacuola sin contenido.

En las suprarrenales se observaron pequeños focos difusos hemorragicos por la cortical.

En el bazo llama la atencion la disminucion de tamaño de los folículos linfoides, la proliferacion de células del reticulo y la presencia de macrófagos cargados de hemosiderina.

SERIE 6

Caso nº 45.- Animal muerto a los 15 dias. Se estudiaron el bazo, suprarrenales e hígado.

El hígado ofrece un aspecto normal y en el bazo se observa una aumento de los tractos conjuntivos con disminución de la poblacion celular habitual. Existe gran cantidad de macrófagos cargados de hemosiderina.

Caso nº 42.- Animal fallecido a los 16 días. Se estudiaron el bazo, suprarrenales e hígado y como únicos hallazgos positivos se encontraron la presencia de abundantes macrófagos cargados de hemosiderina en el bazo y presencia de hemorragias difusas en las suprarrenales.

En todos los timos examinados, pertenecientes a distintos animales de diferentes series, no se encontraron alteraciones histopatologicas dignas de mencion.

III.- EFFECTOS SECUNDARIOS Y COMPLICACIONES OBSERVADOS

A.- De la anestesia.- De 50 animales anestesiados en dos se produjo la muerte inmediata por parada respiratoria seguida de parada cardiaca. En ambos casos la parada cardiaca no fue recuperable a pesar de las maniobras de reanimacion. Los ~~organos~~ organos de estos animales (bazo, suprarrenal y timo), así como la piel, fueron tomados como referencia para estudio histológico y patron volumétrico (Foto nº 2). Tales animales no van incluidos en las series estudiadas. Dada la sensibilidad de estos animales a los agentes anestésicos, y el procedimiento rudimentario empleado, el porcentaje de muertes anestisicas (4%) es realmente bajo.

B.- Dependientes de otros factores.- La influencia de factores técnicos, ambientales, de los agente inmunodepresores, de la heparina, etc. en la aparicion de estos efectos secundarios y complicaciones seran discutidos en el capitulo siguiente. En el presente nos limitamos a describir los observados en animales integrantes de cada una de las series.

SERIE 1

Caso nº 2.- El animal se muestra "triste" desde el dia siguiente a la realizacion de los trasplantes cutáneos: Permanece en un rincon de la jaula y come poco. A los cuatro dias inicia el rechazo del aloinjerto. Al quinto dia el animal está muy delgado, se le cae el pelo, que está erizado, permanece inactivo en una actitud en que aproxima las patas delanteras a las traseras y arquea el dorso (Foto nº 15). El animal rechaza el homoinjerto precozmente (7º dia) y al dia siguiente se desprende el autoinjerto. A partir del 8º dia el animal presenta --

diarrea adelgazamiento progresivo y aunque a los 15 días los lechos de los injertos se encuentran cicatrizando, el animal muere a los 17 días, presentando una necrosis de la pared abdominal emplazada justamente en el área del homoinjerto que llega a perforar el peritoneo (Foto nº 17). Los hallazgos histopatológicos en el área del autoinjerto y del homoinjerto, bazo, suprarrenales y timo, quedaron reseñados en el apartado correspondiente y los hallazgos de la autopsia serán descritos mas adelante.

El aspecto de los injertos en tiempos diferentes, queda expuesto en las fotos nº 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16 y 18.

SERIE 2

Caso nº 9.- Se realiza la intervencion habitual de autoinjerto en el flanco derecho y aloinjerto con piel procedente del caso nº 10 en el flanco izquierdo, que discurre sin incidentes. A las pocas horas de recibir la segunda dosis de ~~6-metil-~~ prednisolona, el animal muere, habiendo presentado un exudado sero-sanguinolento en torno al homoinjerto, que hace presumir la presencia de una infeccion. Los hallazgos histopatológicos en el área del autoinjerto y del homoinjerto, así como en el bazo y suprarrenales, quedaron reseñados en el apartado correspondiente y los de la necropsia seran descritos mas adelante.

Caso nº 10 .- A las 24 horas aproximadamente, de ~~realizar~~ realizar los trasplante cutaneos, en el área del homoinjerto presenta un abundante exudado seroso y la piel del receptor que circunda el borde interno del homoinjerto esta macerada y ulcerada (foto nº 37), mientras que el auto-

injerto ofrece un aspecto normal (foto nº 38). Al día siguiente, el animal tiene mal aspecto, come poco tiene el pelo erizado y en el área del homoinjerto presenta unos signos inflamatorios violentos (foto nº 39) y ha progresado la escara cutánea, conservando buen aspecto el autoinjerto (foto nº 40). A los 4 días la escara cutánea abdominal esta mas seca y mas delimitada, conservandose el aloinjerto seco endurecido y retraido (foto nº 41), en comparacion al aspecto normal que ofrece el autoinjerto (foto nº 42).

Al 8º día aparece un surco de delimitacion, que sangra ligeramente, en la zona de necrosis cutánea y conserva el aloinjerto y el autoinjerto, si bien en este se observa una evolucion desfavorable, pues aparece seco, endurecido y retraido.

A los 10 días se desprende el autoinjerto y se conserva el homoinjerto, pero este comienza a ser rechazado por una de sus esquimas, como es habitual, y esta rodeado de una escara cutánea seca (foto nº 43).

A los 14 días se desprende la escara cutánea abdominal y el homoinjerto es totalmente rechazado (foto nº 44), presentando los lechos de la escara y del homoinjerto un aspecto similar, pero es mucho mas pequeño el del homoinjerto. El lecho del autoinjerto (foto nº 45) se ha cerrado por contraccion y esta totalmente epitelizado. El lecho del homoinjerto está cerrado al día siguiente.

El lecho de la escara abdominal se reduce progresivamente de tamaño y esta practicamente cerrado a los 23 días (foto nº 46), mostrando un notable retraso con respecto a la evolucion del lecho del autoinjerto.

Caso nº 14.— A los 47 días de haber practicado los injertos cutáneos, el animal tiene un parto de dos crias normales, pero ambos recién nacidos, mueren a los 2 días por falta de cuidados maternos: la madre, aunque tiene secreción láctea, no les amamanta y no les presta ningún cuidado e incluso les agrede.

SERIE 3

Caso nº 17.— Al día siguiente de la operación presenta un exudado sero-purulento, de color amarillo-rojizo, en el área del homoinjerto, que macera la piel circundante al mismo, mientras el autoinjerto ofrece buen aspecto.

A las 48 horas de las trasplantes cutáneos, ambos injertos, tanto el autoinjerto como el aloinjerto, supuran abundantemente (foto nº 53) y presenta un flemon difuso de la pared abdominal.

El animal se separa de sus compañeros de jaula y pocas horas después, muere.

Caso nº 18. Las biopsias cutáneas realizadas a los 3 días, sangran más abundantemente que las realizadas en animales de otras series.

Al quinto día el animal presenta un hematoma subcutáneo abdominal en el lugar de las inyecciones de heparina y presenta una exudación hemorrágica a nivel de las heridas de biopsia realizadas dos días antes.

Al 7º día el aloinjerto comienza desprenderse (foto nº 54), presentando por debajo del mismo un lecho discretamente hemorrágico y los bordes del mismo cortados a pico, sin ninguna tendencia a la cicatrización. El autoinjerto ofrece buen aspecto (foto nº 55).

A los 7 días se toman biopsias del autoinjerto y del homoinjerto y las heridas de las mismas cicatrizan con lentitud, ofreciendo un aspecto torpido y con exudado sero-hemorrágico.

A los 10 días se desprende el autoinjerto y a los 12 días el rechazo del aloinjerto es completo. Los lechos de ambos injertos presentan un aspecto humedo y cicatrizan con lentitud.

El lecho del autoinjerto se encuentra totalmente cicatrizado a los 20 días y el del aloinjerto a los 22 días.

Caso nº 19.- El lecho del homoinjerto, rechazado totalmente a los 7 días, presenta un aspecto jugoso, con exudado hemorrágico, bordes cortados a pico y escasa tendencia a la cicatrización.

Al mismo tiempo presenta un hematoma subcutáneo abdominal en el lugar de las inyecciones de heparina y un cuadro de hemorragia digestiva abundante al 9º día que pone al animal en una situación crítica, con intensas taquicardias y taquipnea, cianosis acra e hipotermia marcada.

Al día siguiente el animal está algo más recuperado pero persisten las melenas. El hematoma subcutáneo abdominal fluctúa y ha tomado mayores dimensiones por lo que se evacua por punción, obteniéndose 7 ml. de

sangre fluida y roja. Este mismo día se desprende el autoinjerto, presentando un lecho con escasa tendencia a la cicatrización y con características similares a las del aloinjerto.

A los 13 días, ambos lechos presentan un estado de cicatrización torpida y el animal ofrece mal aspecto (ha adelgazado, no come, está inactivo y "triste") habiéndose reproducido el hematoma subcutáneo abdominal, muriendo el animal a los 15 días.

Caso nº 20 .- El animal presenta un rechazo precoz del aloinjerto (7º día), con un lecho de bordes cortados a pico, con escasa tendencia a la cicatrización y fondo sangrante. El autoinjerto se desprende al 8º día, mostrando un lecho de características similares a las del aloinjerto.

Desde el 6º día presenta un hematoma subcutáneo abdominal discreto.

Al 9º día, presentan los lechos escasa tendencia a la cicatrización y un exudado sero-hemorrágico. Sin embargo en este caso ambos lechos cicatrizan perfectamente y de un modo semejante, encontrándose cerrados a los 15 días.

Caso nº 21 .- Presenta un rechazo precoz del homoinjerto (7º día), mostrando un lecho semejante al del caso anterior (foto nº 57), mientras el autoinjerto ofrece buen aspecto (foto nº 58). La presencia de un hematoma subcutáneo abdominal es bien patente a partir del 8º día, ofreciendo el animal mal aspecto general. Al 9º día el animal muere, y presenta a nivel del lecho del aloinjerto una solución de continuidad de la pared abdominal, con salida de un asa de intestino delgado. El autoinjerto está muy seco y endurecido, por lo que se considera que llevado una evolución desfavorable y se hubiese desprendido, probablemente, si el animal superviviera algún día más.

Caso n° 22.- Al 7º día , aunque conserva ambos injertos, existe como un surco de delimitación entre la piel del receptor y ambos injertos, sobre todo en el lado del autoinjerto (foto n° 59). Al 8º día se desprende el autoinjerto y al 9º, el rechazo del homoinjerto es completo, presentando lechos semejantes, excavados, húmedos, que cicatrizan lentamente.

Desde el 8º día presenta un hematoma subcutáneo abdominal discreto y una cierta afectación del estado general, con pérdida de apetito y adelgazamiento. Sin embargo al suprimir la medicación, el animal se recupera rápidamente, reduciéndose de tamaño, concéntricamente, ambos lechos y estando totalmente cerrados a los 15 días. La delgadez del animal perdura un mes aproximadamente.

Caso n° 23.- Al 8º día presenta un hematoma subcutáneo abdominal discreto, que se reabsorbe muy lentamente y a los 16 días se necrosa la piel que le recubre, transformándose en una escara negruzca que se delimita y desprende 4 días después.

El autoinjerto ha prendido perfectamente (foto n° 60) mientras que el lecho del aloinjerto rechazado a los 12 días, no se encuentra totalmente cicatrizado hasta los 15 días. Su aspecto a los 22 días se muestra en la foto n° 61.

Caso n° 24.- Al 8º día presenta un hematoma subcutáneo abdominal que al día siguiente alcanza un gran volumen. Al 10º día se desprenden ambos injertos, observándose unos lechos excavados y sangrantes, con aspecto de cicatrización torpida. Al suprimir la heparinoterapia los lechos se reducen concéntricamente y cicatrizan por completo a los 15 días de practicar los trasplantes cutáneos.

Sin embargo el animal muere a los 30 días, con los hallazgos que serán descritos en la autopsia.

SERIE 4.

Caso nº 26.- A los 12 dias presenta una hemorragia abundante en el lecho del homoinjerto, que habia sido rechazado completamente a los 10 dias. Se suprime la medicacion este día y al siguiente el lecho del aloinjerto está completamente seco y recubierto de una costra.

A los 15 dias presenta un cuadro de diarrea copiosa, con intensa taquicardia taquipnea e hipotermia.

A los 16 dias el animal sufre un aborto, de tres crias muertas, con una discreta hemorragia vaginal.

Progresivamente el animal se recupera y supervive, en buen estado, curante todo el tiempo de observacion.

Caso nº 27.- A las 48 horas de realizar los trasplantes cutáneos el animal presenta una exudacion serosa a nivel de la línea media del abdomen, a distancia de los injertos que ofrecen buen aspecto.

Al dia siguiente, en la línea media, desde el cuello a genitales externos, la piel ventral ha perdido el pelo, esta tumefacta, es de color blanco-pálido y tiene un aspecto jugoso presentando una abundante exudacion serosa, de color ligeramente rosado, muy maloliente, que empapa el pelo de la piel vecina. El animal muere unas horas despues.

Caso nº 28.- Presenta una diarrea profusa a los 7 días, lo que obliga a disminuir la dosis de Azatioprina a la mitad durante 2 dias.

A los 11 dias, el animal tiene mal aspecto, con el pelo erizado, inactivo y con taquipnea. Al dia si-

guiente tiene un aborto con tres crias muertas y una hemorragia vaginal discreta, desprendiéndose el autoinjerto. A los 14 dias presenta una hemorragia pequeña por el lecho del homoinjerto, que habia sido rechazado 4 dias antes. A los 16 dias el aspecto del lecho del homoinjerto queda recogido en la foto nº 65.

A los 18 dias, presenta de nuevo una intensa diarrea, con taquipnea, taquicardia e hipotermia. El animal permanece inactivo en un extremo de la jaula, con el pelo erizado y encogido, muriendo al dia siguiente, con el cuadro anatomopatológico de una neumonia.

Caso nº 30. Presenta diarrea a los 12 dias que cede al disminuir la medicacion.

Caso nº 31. Presenta una discreta hemorragia por el homoinjerto al 9º dia que es rechazado totalmente al dia siguiente. A los 13 dias el animal tiene un aborto de tres crias muertas.

Caso nº 32. A los 6 dias presenta una escara cutánea abdominal, situada en la línea media abdominal, con aspecto jugoso, a cuyo nivel ha perdido el pelo y con un discreto exudado seroso.

Al dia siguiente la escara esta mas seca y delimitada (foto nº 73). El aspecto de la misma a los 13 dias y a los 19 dias, queda recogido en las fotografias nº 78 y 81, respectivamente. A los 22 dias la escara está totalmente cicatrizada y epitelizada.

SERIE 5

SERIE 5

No se observaron efectos secundarios ni complicaciones en ninguno de los animales de esta serie.

SERIE 6

Caso n° 42.- A los 9 días se produce el rechazo del aloinjerto, mientras el autoinjerto ofrece buen aspecto (foto n° 102).

A los 10 días presenta una pequeña hemorragia a nivel del autoinjerto y este se desprende a los 13 días, presentando un lecho seco y pequeño, que cicatriza completamente en 2 días mas. Sin embargo a partir del día 15, el animal tiene mal aspecto, está inmovil en un extremos de la jaula, tiene el pelo erizado y esta encogido, muriendo al día siguiente.

Caso n° 45.- A los 10 días presenta una hemorragia por el autoinjerto, que se desprende en unas horas, dejando al descubierto un lecho discretamente hemorrágico. El homoinjerto este mismo día, presenta una hemorragia mas discreta y se rechaza completamente al día siguiente.

A los 12 días el animal presenta una diarrea intensa, con grave afectación del estado general, erizándosele el pelo y mostrando escasa tendencia a la cicatrización de los lechos del autoinjerto y del homoinjerto. A los 14 días persiste el cuadro y el animal ofrece un aspecto de "canijo" que puede observarse facilmente en las fotografías n° 107 y 108, en las que aparece junto al caso n° 46, muriendo al día siguiente.

CUADRO NO 39

Efectos secundarios y complicaciones	Serie 1,	Serie 2	Serie 3	Serie 4	Serie 5	Serie 6	TOTAL
Afectacion Estado general	1 caso	2 casos	5 casos	3 casos		2 casos	13
Evolucion desfa- vorable del autoin- jerto.	1 caso	1 caso	6 casos	1 caso		2 casos	11
Manifestaciones hemorragicas			7 casos	3 casos		2 casos	12
Infeccion		2 casos	1 caso	3 casos			6
Diarrea				3 casos		1 caso	4
Abortos				3 casos			3 %
Perdida instinto materno		1 caso					1

Los efectos secundarios y complicaciones observadas en los animales integrantes de cada una de las series, quedan reunidos en el cuadro nº 39.

IV.- HALLAZGOS MACROSCOPICOS EN LAS NECROPSIAS

SERIE 1

Caso nº 2.- La muerte sobreviene a los 17 días de realizar los trasplantes cutáneos.

El animal presenta una delgadez extrema y en el área de aloinjerto presenta una necrosis de la pared abdominal redondeada, de 1,5 cm. de diametro aproximadamente, que interesa a todo el espesor de la pared, incluso al peritoneo. El borde de la zona necrosada presenta un color gris-negro y a través de la solucion de continuidad de la pared, se penetra en la cavidad peritoneal libre, siendo visibles las asas intestinales (fotografia nº 17). El lecho del autoinjerto esta completamente cicatrizado (foto nº 18).

Se abre la cavidad abdominal por la línea media, no presentando exudados peritoneales y todo el tubo digestivo es normal en su aspecto morfológico. El bazo es de tamaño normal y las suprarrenales son de gran tamaño, ofreciendo un aspecto ligeramente congestivo. La apartura de la cavidad torácica no revela hallazgos dignos de mencion. En la fotografia nº 19 puede observarse el aspecto del bazo, de ambas suprarrenales, del timo y de la pared abdominal en la razon necrosada vista por su cara peritoneal.

Se recogen el bazo, suprarrenales, timo y piel del área del autoinjerto y del homoinjerto para estudio histopatológico.

SERIE 2

Caso nº 9.— La muerte sobrevino a las 24 horas de realizar los trasplantes cutáneos.

Examinado el animal antes de proceder a la apertura de sus cavidades, se observa un buen aspecto externo de ambos injertos, si bien el aloinjerto presenta un discreto exudado sero-sanguinolento a su alrededor (foto nº 34) que es mucho menor en torno al autoinjerto (foto nº 35).

Abierta la cavidad abdominal no se observa ningun exudado peritoneal y el tramo digestivo no muestra alteracion alguna. El bazo esta discretamente aumentado de tamaño y ofrece un aspecto congestivo, siendo muy visibles al corte los folículos linfoides. Las suprarrenales son de tamaño normal y tienen al corte un aspecto congestivo en su zona medular.

Al examinar la pared abdominal por su cara peritoneal, se observa por transparencia del peritoneo una zona mas oscura, que corresponde al emplazamiento del aloinjerto. Separado el peritoneo parietal del resto de la pared, se observa que bajo el homoinjerto existe una oquedad llena de un exudado sero-sanguinolento y que esta delimitada por lo siguientes elementos: Su pared externa esta formada por la cara profunda del homoinjerto; su pared interna esta formada por el peritoneo parietal, que macroscopicamente no ofrece alteraciones; y su periferia esta constituida por una cavidad labrada en la musculatura abdominal. Tal cavidad esta llena de un liquido sero-sanguinolento idéntico al exudado descrito en torno al homoinjerto al describir los hallazgos de la pared abdominal. El aspecto de esta cavidad queda recogida en la fotografia nº 36 junto al bazo y suprarrenal.

En el area del autoinjerto no se detectan estos hallazgos, estando el injerto fijo a su lecho, de aspecto normal, por un exudado de fibrina.

Al corte ambos injertos, tanto el autoinjerto como el aloinjerto, estan muy adelgazados.

En la cavidad torácica no existen hallazgos dignos de mencion.

Se recogen las áreas del autoinjerto y del homoinjerto, el bazo y la suprarrenal izquierda, para estudio histopatológico.

SERIE 3.

Caso nº 17.- El animal murió a los dos días de realizar los injertos cutáneos. El pelo de la region ventral del animal aparece empapado de un exudado purulento, maloliente, de color rojizo (foto nº 53). Los injertos presentan buen aspecto, pero cuando se hace comprension de los mismos, de su lecho sale abundante exudado purulento. Se incinde la piel en la línea media anterior desde la boca a genitales externos encontrando un extenso flemon subcutáneo extendido por toda la region central del tronco. En la region abdominal la piel aparece disecada de los planos musculo-aponeuróticos, por una gran cavidad repleta de pus, y los músculos estan palidos con aspecto de "carne de pescado".

Abierta la cavidad abdominal, no se encuentran exudados peritoneales ni alteraciones viscerales. El bazo y las suprarrenales son de aspecto normal, aunque se extraen para estudio histopatológico. En la cavidad torácica no hay hallazgos de interes. Se recoge el timo para estudio histopatológico.

Tambien se recogen muestras del área del autoinjerto y del homoinjerto para analisis anatomopatológico.

Caso nº 19.— El animal murió a los 15 días de realizar los injertos cutáneos.

Los lechos del autoinjerto y del homoinjerto presentan un aspecto de cicatrización torpida, estando ocupados por una especie de coágulo en vías de organización.

En la pared abdominal presenta un hematoma subcutáneo, que fluctúa discretamente. Abierta la piel de la pared abdominal se comprueba la presencia del hematoma subcutáneo aludido, que está en vías de organización. — Examinadas las vísceras de la cavidad abdominal no se observan modificaciones de interés, presentando un bazo y suprarrenales de tamaño normal o muy discretamente aumentado.

En la cavidad torácica, en ambos pulmones,, pero mas en el derecho, presenta focos hemorrágicos múltiples que infiltran dichos órganos, mostrando el aspecto de un derrame reciente, que se vacía fácilmente por — expresión. Se recogen fragmentos de estas vísceras, — junto con el bazo, suprarrenal, timo y piel de la zona de los injertos para su estudio anatomopatológico.

Caso nº 21.— El animal murió a los 9 días de realizar los trasplantes cutáneos.

Conserva el autoinjerto retraído, duro y seco, lo que hace sospechar que muy probablemente se hubiese desprendido si el animal superviviera algún día mas. A través del lecho del homoinjerto se observa la salida de un asa intestinal delgada, sin que se observen signos de necrosis en la pared abdominal ni de estrangulación en el asa, a pesar de estar aviscerada por un estrecho orificio. Tampoco existen fenómenos inflamatorios a nivel del lecho del homoinjerto.

Al abrir la piel del abdomen se comprueba la existencia de un gran hematoma subcutáneo, que diseca la — piel del plano musculo-aponeurótico. En la cavidad — abdominal las asas intestinales están libres y no — existen exudados. Llama la atención la gran dilatación aérea del estómago y del intestino delgado, comprobando la existencia de contenido hemático en todo el tramo digestivo. El bazo es de tamaño y aspecto normal.

Las suprarrenales son de tamaño normal pero ofrecen un aspecto ligeramente congestivo. El peritoneo parietal aparece con una perforación puntiforme en el flanco izquierdo, que coincide con el lecho del homoinjerto, sin que se observen signos macroscópicos de peritonitis. El resto del peritoneo ofrece un aspecto normal.

En el torax existe un derrame hemático en ambas cavidades pleurales y un infiltrado hemorrágico en ambos pulmones, mas acentuado en el derecho que en el izquierdo, que se vacía fácilmente por expresión.

Se recogen el bazo, timo, suprarrenal izquierda y los fragmentos cutáneos adecuados para su estudio anatómopatológico.

Caso nº 24.— El animal murió a los 30 días de realizados los trasplantes cutáneos.

Los lechos de ambos injertos se encuentran perfectamente cicatrizados. En la pared abdominal presenta un pequeño hematoma subcutáneo ya organizado. Abierta la cavidad abdominal se comprueba la existencia de una gestación poco avanzada. El bazo y las suprarrenales están discretamente aumentados de tamaño. El hígado, de superficie lisa, muestra un punteado blanquecino-amarillento por transparencia, poco marcado. El tubo digestivo abdominal es normal.

En la cavidad torácica el pulmón derecho presenta en su mitad inferior una coloración rojiza uniforme, que coincide con idéntica zona de condensación pulmonar, la cual ofrece al tacto una consistencia aumentada. Al corte, esta zona tiene un aspecto carnoso y presenta áreas diseminadas de color blanquecino.

Se toman el bazo, suprarrenal izquierda, fragmentos del pulmón derecho, hígado y piel de las zonas del autoinjerto y del homoinjerto para estudio histopatológico.

SERIE 4.-

Caso nº 27.- El animal murió a los 3 días de realizar los trasplantes cutáneos.

Ambos injertos ofrecen buen aspecto. Toda la piel de la region ventral comprendida en una zona rectangular que ocupa la línea media y que se extiende desde el cuello a los genitales externos, con una anchura de 1,5 cm. ha perdido el pelo, muestra un color blanquecino-nacarado y un aspecto jugoso. El pelo de la piel circundante aparece empapado de un exudado seroso, de color rosado y en extremo maloliente. Toda la zona desprovista de pelo exhibe una tumefaccion mas acentuada a nivel de la pared torácica y parte baja del cuello.

Se practica una incision longitudinal media y se observa que no existe disociacion entre los diversos planos que integran las paredes del torax y del abdomen. Existe una infiltracion edematosa del tejido celular subcutáneo, fundamentalmente, que por expresion re-xuma un líquido similar al descrito anteriormente. Esta infiltracion está limitada a la línea media y coincide con la zona de tumefaccion cutánea, quedando a distancia de los injertos, que aparentemente yacen sobre un lecho sano. Los musculos subyacentes a la infiltracion subcutánea, presentan un aspecto blanquecino, como de "carne de pescado".

En las cavidades abdominales y torácica no se encuentran modificaciones de interés. Las suprarrenales son de tamaño normal y estan ligeramente pálidas. El bazo y el hígado son de tamaño y aspecto normales.

Se obtienen el bazo, suprarrenal izquierda, y timo, así como fragmentos del autoinjerto y del homoinjerto y de la piel y musculos de la region cervico-torácica para estudio anatomopatológico.

Caso nº 28.— El animal murió a los 19 días de realizar los injertos cutáneos.

Los lechos de ambos injertos estan muy reducidos de tamaño y a punto de concluir su cicatrizacion. En la cavidad abdominal el tubo digestivo no muestra alteraciones; el bazo y las suprarrenales ofrecen un tamaño y aspecto normales. El hígado de tamaño normal, está ligeramente pálido. La matriz está ligeramente aumentada de tamaño, pero no podemos comprobar que esté ocupada.

En la cavidad torácica no existen derrames pelurales. En ambos pulmones, mas en el derecho que en el izquierdo, presenta zonas intensamente congestivas, de consistencia mayor en otras.

Se toman el bazo, suprarrenal izquierda, timo, fragmentos de hígado, de ambos pulmones y de las zonas del autoinjerto y del homoinjerto para estudio anatomopatológico.

SERIE 5

No murió ninguno de los animales integrados de esta serie.

SERIE 6

Caso nº 42.— El animal murió a los 16 días de realizar los injertos cutáneos.

Los lechos de ambos injertos, tanto del autoinjerto como del homoinjerto, estan completamente cicatrizados.

En la cavidad abdominal el tubo digestivo no muestra alteracion alguna. El hígado tiene tamaño y aspecto normales. El bazo es muy pequeño, probablemente el mas pequeño de todos los encontrados en las necropsias. Las suprarrenales son de tamaño y aspecto normales.

En la cavidad torácica no se encuentra modificación alguna.

Se extirpan el bazo y suprarrenal izquierda y se toman fragmentos del hígado y de la zona de los injertos cutáneos para su estudio histopatológico.

Caso nº 45.- Murió a los 15 días de realizar los trasplantes cutáneos.

El animal esta muy delgado, presentando el lecho del autoinjerto casi cácatrizado por completo, mientras que el del aloinjerto, que es de mayor tamaño, presenta una mínima exudación sero-sanguinolenta.

En la cavidad abdominal el tracto digestivo no ofrece alteraciones. El bazo el hígado y las suprarrenales son de aspecto normal y de pequeño tamaño. No existen exudados en la cavidad peritoneal.

En el torax, de ambas cavidades pleurales, se detecta la presencia de un importante derrame hemorrágico, con sangre roja y algunos coágulos frescos, que ocupa más de la mitad de dichas cavidades. Los pulmones no muestran alteraciones groseras salvo pequeñas zonas de --atelectasia.

Se toman el bazo, la suprarrenal izquierda y fragmentos de hígado y piel correspondiente al autoinjerto y al homoinjerto para estudio anatomopatológico.

Las causas de muerte de cada uno de los animales, serán analizadas más profundamente al discutir los resultados, pero por los hallazgos de la necropsia, su distribución es la reflejada en el cuadro nº 40.

CUADRO NO 40

SERIE	Nº de MUERTOS	CASO Nº	TIEMPO TRANSCURRIDO DESDE LOS TRASPLANTES	CAUSA PROBABLE DE MUERTE	% DE LA MORTALIDAD GLOBAL
1	¹ (12,5 %)	2	17 días	Fenómeno Inmunológico	10 %
2	¹ (12,5 %)	9	24 horas	Sepsis	10 %
3	⁴ (50 %)	12	2 días	Sepsis	40 %
		19	15 días	Hemorragia pulmonar	
		21	9 días	Hemorragia visceral múltiple	
		24	30 días	Neumonía	
4	² (25 %)	27	3 días	Sepsis	20 %
		28	19 días	Neumonía	
5					0 %
6	² (25 %)	42	16 días	Incierta	20 %
		45	15 días	Hemorragia pleural	

V.- OTRAS OBSERVACIONES

Calculando el tiempo medio que transcurrió desde la -- práctica de los trasplantes cutáneos hasta la total -- cicatrización de los lechos del homoinjerto, su distribución por serie fue la expuesta en el cuadro nº 41.

CUADRO Nº 41

SERIE	TIEMPO MEDIO DE CICATRIZACION TOTAL
1	13, 8 días
2	13,5 15 días
3	15 días
4	17, 6 días
5	14,5 días
6	14,2 días

Para el calculo de estos tiempos medios se ha prescindido de aquellos animales que fueron sometidos a biopsias cutáneas, cuya práctica pudo interferir el proceso de cicatrización de los lechos de los homoinjertos. Igualmente se prescindió de aquellos animales que murieron antes de que se consiguiese la total cicatrización del área de implantación del aloinjerto.

La cicatrización de los lechos de los injertos rechaza-

dos, se produjo fundamentalmente de dos formas:

- a.- Reduccion concentrica del lecho, originando una cicatriz redondeada de mayor o menor diametro y mas o menos deprimida (fotografia nº 45).
- b.- Reduccion asimétrica del lecho originando una cicatriz lineal (fotos nº 46 y 82) o en forma de X tumbada (foto nº 61).

En cuanto a la rapidez del rechazo, hemos observado fundamentalmente dos formas:

- 1.- Rechazo rápido del aloinjerto: Una vez iniciado el mismo, se consume en el plazo de 24-48 horas.
- 2.- Rechazo lento del aloinjerto: El proceso se desarrolla con mayor lentitud.

El aspecto de los lechos de los aloinjertos rechazados es muy variable de unos casos a otros y puede observarse en los múltiples ejemplos fotograficos que se muestran, variando con la cronologia del mismo. En líneas generales, cuanto mas tiempo haya transcurrido desde la realizacion del aloinjerto al momento del rechazo tanto menor sera el lecho del mismo. Por el contrario los rechazos muy precoces exhiben un lecho de dimensiones casi iguales al preparada para realizar el injerto inicial.

En aquellos casos en que ademas de ser rechazado el aloinjerto, se produjo el desprendimiento del autoinjerto, la evolucion de ambos lechos fue muy similar y ya quedo señalada al tratar de los efectos secundarios y de las complicaciones, consiguiendose la cicatrizacion completa de ambos en tiempos parecidos, quizás algo mas precozmente en los de autoinjertos que en los de homoinjertos.

CHAPTER XIV

COMENTARIO Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS.-

I. HALLAZGOS MORFOLOGICOS.

A. HOMOIINJERTOS.-

El tiempo de supervivencia media de los aloinjertos de los animales pertenecientes a cada una de las series queda reflejado en el cuadro nº 42 y en la gráfica nº 7, donde se observa que con cualquiera de --

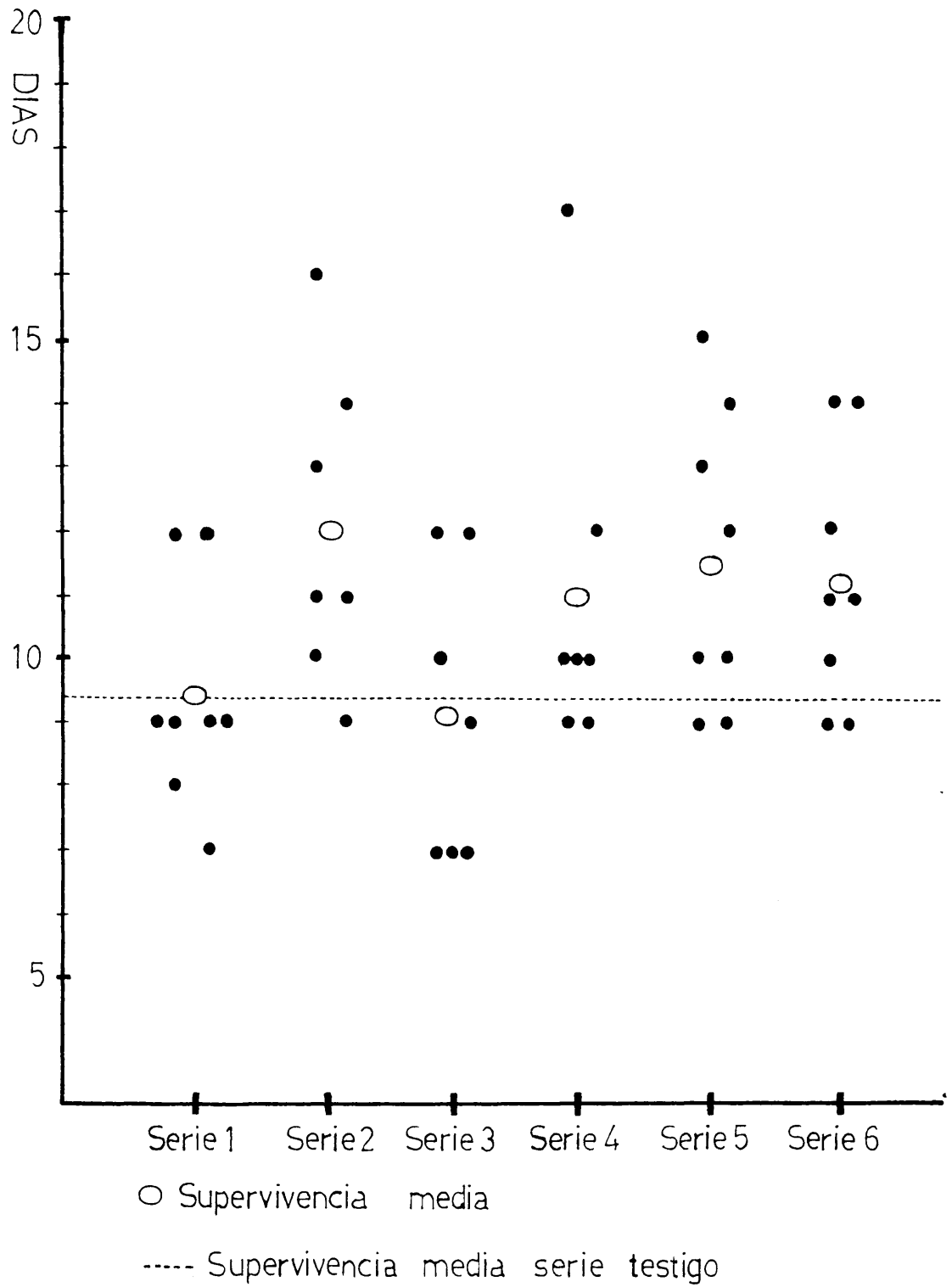
CUADRO Nº 42

SERIE	SUPERVIVENCIA MEDIA DEL ALOINJERTO
1	9,38 dias
2	12 dias
3	9,14 dias
4	11 dias
5	11,5 dias
6	11,25 dias

las drogas empleadas, excepto con la heparina, se consigue aumentar la supervivencia de los aloinjertos cutáneos.

GRAFICA Nº7

ALOINJERTOS CUTANEOS



Si se hace abstracción de la serie 3 (animales tratados con heparina), de los 30 animales restantes que integran las series, 2, 4, 5 y 6 (animales tratados con inmunodepresores), en 23 de ellos (76,66%) la supervivencia del homoinjerto fue superior a la supervivencia media del aloinjerto en la serie control (serie 1), de donde puede deducirse la efectividad de los inmunosupresores químicos para conseguir un retraso en el rechazo de tales aloinjertos. Por otra parte, en los 7 casos restantes de esta serie, la supervivencia de todos los aloinjertos fue de 9 días, muy próxima a la supervivencia media de la serie 1. Individualmente considerados, en nuestra experiencia la efectividad de las drogas inmunodepresoras empleadas, "medida" según el tiempo de supervivencia de los homoinjertos cutáneos en cobayas, queda establecida en sentido decreciente, según el siguiente orden: 6-metilprednisolona → ametofterina → ciclofosfamida → azatioprina.

A pesar de quedar comprobada su efectividad, el tiempo de prolongación de la supervivencia de los aloinjertos cutáneos ha sido muy pobre, lo que puede explicarse por los siguientes motivos:

- a.- No se realizó selección de donantes en el momento de realizar los trasplantes cutáneos.
- b.- Por el contrario se emplearon cobayas procedentes de dos criaderos diferentes, a fin de evitar consanguinidad entre cada pareja donante-receptor, y buscando, al azar, mayor disparidad genética entre ambos.
- c.- Cada animal fue tratado con una droga única, sin emplear asociaciones de inmunodepresores químicos, que son más efectivas.

d.- No se utilizó ningún otro procedimiento asociado de inmunodepresión.

e.- No se realizó ningún control para evitar los efectos tóxicos de los inmunodepresores químicos y modificar su dosificación, ya que también constituían objeto de nuestras experiencias el estudio de los efectos colaterales de estas drogas.

Los resultados obtenidos en la serie 3, en la que la supervivencia media de los aloinjertos fue muy similar a la de la serie 1 (9, 14 días y 9,38 días respectivamente), nos permite dudar del efecto beneficioso de la heparina para demorar el rechazo de los homoinjertos cutáneos en el cobaya. Por el contrario en algunos de los animales de esta serie fue mucho más frecuente un rechazo precoz del aloinjerto (a los 7 días en 3 casos), lo que sin duda se debe a los efectos de esta droga sobre la coagulación de la sangre, que trastorna la normal biología de los injertos cutáneos, por la formación de colecciones hemáticas bajo los mismos. El nulo efecto conseguido con la heparina, quizá se deba a su utilización precoz, desde el momento de realizar los trasplantes cutáneos, y sobre todo a falta de estudios bioquímicos de la coagulación, que permitan una dosificación adecuada de la misma. Por este motivo, para poder negar una acción beneficiosa de la heparina sobre los trasplantes cutáneos, creemos que deben realizarse otras experiencias, utilizándola en el momento de iniciarse el rechazo y sobre todo dosificándola adecuadamente mediante los oportunos controles sobre la coagulación. A la luz de la experiencia realizada por nosotros, únicamente nos está permitido dudar de su efectividad para demorar el rechazo de alotrasplantes cutáneos en el cobaya.

CUADRO Nº 43

SERIE	CASO Nº	SEXO	SEXO DEL DONANTE	COLOR DEL RECEPTOR	COLOR DEL ALOINJERTO	SUPERVIVENCIA MAXIMA DEL ALOINJERTO (días)
1	3	♂	♂	Negro	Blanco	12
	8	♀	♀	Blanco	Negro	12
2	16	♀	♀	Blanco	Blanco	16
3	18	♂	♂	Blanco	Blanco	12
	23	♂	♀	Canela	Blanco	12
4	29	♀	♂	Blanco y Canela	Blanco	17
5	37	♂	♀	Negro	Blanco	15
6	43	♂	♂	Negro	Blanco	14
	44	♂	♂	Blanco	Negro	14

La mayor supervivencia individual dentro de cada serie, teniendo en cuenta el sexo del receptor, su color predominante y el sexo del donante y color del aloinjerto, queda reflejada en el cuadro nº 43.

Individualmente considerados los casos de mayor supervivencia dentro de cada serie, se observa:

- a.- Serie 1.- La mayor supervivencia corresponde a trasplantes entre individuos del mismo sexo, tanto entre machos como entre hembras y de colores predominantes distintos.
- b.- Serie 2.- La mayor supervivencia corresponde a trasplantes entre individuos del mismo sexo (hembras) y de idéntico color predominante.
- c.- Serie 3.- La mayor supervivencia corresponde a trasplantes entre individuos macho y del mismo color o a trasplantes entre individuos de sexo opuesto, cuando el receptor es un macho y el donante una hembra, y ambos son del color predominante diferente.
- d.- Serie 4.- La mayor supervivencia corresponde a trasplantes entre individuos de sexo opuesto, cuando el receptor es una hembra y el donante un macho, y ambos son de color predominante diferente.

e.-Serie 5.- La mayor supervivencia corresponde a trasplantes entre individuos de sexo diferente, cuando el donante es una hembra y el receptor un macho, y ambos son de distinto color predominante.

f.- Serie 6.- La mayor supervivencia corresponde a trasplantes entre individuos machos y colores predominantes diferentes.

En conjunto, analizando la supervivencia máxima individual, en las serie de animales tratados con inmunodepresores químicos, en relacion con diferentes factores los resultados son los siguientes:

1.- Sexo del receptor.- En dos series (2 y 4) el receptor fue una hembra y en otras dos series (5 y 6) el receptor fue un macho. La cifra media de supervivencia máxima del aloinjerto en las dos hembras de las series 2 y 4 es de 16, 5 días, mientras que en los tres machos de las series 5 y 6 es de 14,33 días.

2.- Sexo del donante.- En dos series (2 y 5) el donante fue una hembra y en otras dos series (4 y 6) el donante fue un macho. La cifra media de supervivencia máxima del aloinjerto de las series 2 y 5 es de 15,5 días, mientras que la de las series 4 y 6 es de 15 días.

3.- Sexo del receptor y del donante.- En dos series (2 y 6) donante y receptor eran del mismo sexo; en la serie 2 ambos eran hembras y en la serie 6 ambos eran machos.

En las otras dos series (4 y 5) donante y receptor eran de sexos opuestos: Los receptores fueron hembra y macho respectivamente, y los donantes macho y hembra, respectivamente.

La cifra media de supervivencia máxima del aloinjerto entre receptor y donante del mismo sexo es de 14,66 días (siendo de 16 días cuando ambos son machos y 14 días cuando ambos son hembras) mientras que cuando donante y receptor son de sexos opuestos es de 16 días.

4.- Color predominante del receptor.- De las cinco máximas supervivencias obtenidas

en los alotrasplantes cutáneos de las cuatro series tratadas con inmunodepresores químicos, dos ocurrieron en receptores blancos y tres en receptores de pelo mas oscuro (dos negros y uno blanco y canela). La cifra media de supervivencia máxima del aloinjerto en receptores de pelo blanco fue de 15 días, mientras que en los receptores de pelo mas oscuro (negro o blanco y canela) fue de 15,33 días.

5.- Color del aloinjerto.- En cuatro casos el color predominante fue blanco y en un caso negro. La cifra de supervivencia máxima de los aloinjertos blancos fue de 15,5 días, mientras que la del aloinjerto negro fue de 14 días.

6.- Colores predominantes del receptor y del aloinjerto.- En cuatro casos los colores predominantes del donante y del aloinjerto fueron diferentes y en un caso fueron iguales. La cifra media de supervivencia máxima del aloinjerto cuando su color es diferente del color predominante del receptor es de 15 días, mientras que es de 16 días cuando ambos colores son iguales.

Analizando la supervivencia media de los aloinjertos en relacion al sexo del receptor, en el conjunto de animales de las diferentes series, los resultados quedan recogidos en el cuadro nº 44.

CUADRO N° 44

SERIE	Nº CASOS	SEXO RECEPTOR	SUPERVIVENCIA MEDIA DEL ALOINJERTO SEGUN EL SEXO DEL RECEPTOR	SUPERVIVENCIA MEDIA
1	3 5	Machos Hembras	9,66 9,20	9,38
2	3 4	Machos Hembras	11,66 12,25	12
3	2 5	Machos Hembras	12 8	9,14
4	3 4	Machos Hembras	10 11,75	11
5	5 3	Machos Hembras	11,60 11,33	11,5
6	3 5	Machos Hembras	13,33 10	11,25

De la observacion de este cuadro se deduce que la supervivencia media de los homoinjertos en relación al sexo del receptor en las diferentes series se comporta de la siguiente manera:

- a.- Serie 1.- La supervivencia media es mayor en los machos que en las hembras.
- b.- Serie 2.- Sucede lo contrario que en la serie anterior.
- c.- Serie 3.- Sucede lo mismo que en la serie - testigo, pero existe una notable diferencia entre ambos sexos.
- d.- Serie 4.- La supervivencia media es mayor en las hembras que en los machos.
- e.- Serie 5.- La supervivencia media es mayor en los machos que en las hembras pero con escasa diferencia.
- f.- Serie 6.- La supervivencia media es notablemente mayor en los machos que en las hembras.

Del examen de los resultados obtenidos en las series tratadas con inmunodepresores químicos (series 2, 4, 5 y 6), se deduce que en dos de ellas (series 5 y 6) la supervivencia media fue mayor en los receptores machos que en los receptores hembras (especialmente en la serie 6) y en las otras dos (series 2 y 4) la supervivencia media fue mayor en los receptores machos que en los receptores hembras (especialmente en la serie 6) y en las otras dos (series 2 y 4) la supervivencia media fue mayor en los receptores hembra que en los receptores macho, por lo que no parece influir de una forma notable el sexo del receptor sobre la supervivencia media de los homoinjertos cutáneos en el cobaya, cuyo valor medio en el total de animales hembra de las series 2 y 4 es de 12 días, siendo el valor medio en el total de los animales machos de las series 5 y 6 de 12,25 días.

Segun el sexo del donante y del receptor la supervivencia media del homoinjerto cutáneo en las diferentes series, queda recogida en el cuadro nº 45.

De la observacion de este cuadro, se deduce que la supervivencia media de los homoinjertos en relacion a la igualdad o diferencia de sexos entre donantes y receptores en las diferentes series, se comporta de la siguiente manera:

- a.- Serie 1.-La supervivencia media del homoinjerto es mayor cuando donante y receptor son del mismo sexo, sobre todo si ambos son machos, y es menor cuando los sexos de donante y receptor son opuestos.
- b.- Serie 2.- La supervivencia media del aloinjerto es mayor cuando donante y receptor son del mismo sexo, muy especialmente si ambos son hembras, y es netamente inferior cuando el donante y el receptor son de sexos opuestos.
- c.- Serie 3.- La supervivencia media del aloinjerto es mayor cuando ambos, donante y receptor, son machos. La supervivencia media menor se obtiene cuando ambos animales, donante y receptor, son hembras. Cuando el donante y el receptor son de sexos opuestos, se obtiene una supervivencia netamente superior a la supervivencia media global de la serie y próxima a la supervivencia media obtenida cuando el donante y el receptor son machos.
- d.- Serie 4.- La supervivencia media del aloinjerto es mayor cuando donante y receptor son de sexos opuestos y es menor cuando ambos, donante y receptor, son del mismo sexo (hembras).
- e.- Serie 5.- La supervivencia media del aloinjerto es mayor cuando el donante y el receptor son del mismo sexo (machos) y es menor cuando el sexo de ambos es opuesto.

SERIE		Nº CASOS	SEXO DONANTE-RECEPTOR	SUPERVIVENCIA MEDIA SEGUN SEXO DONANTE-; RECEPTOR		SUPERVIVENCIA MEDIA GLOBAL
1	Igual sexo	2 4	Macho-Macho Hembra-Hembra	10,50 9,25	9,66	9,38
	Sexo Opuesto	2	Macho-Hembra	8,50	8,50	
2	Igual Sexo	1 2	Macho-Macho Hembra-Hembra	14 14,50	14,35	12
	Sexo Opuesto	4	Macho-Hembra	10,25	10,25	
3	Igual Sexo	1 4	Macho-Macho Hembra-Hembra	12 7,50	8,40	9,14
	Sexo Opuesto	2	Macho-Hembra	11	11	
4	Igual Sexo	1	Macho-Macho Hembra-Hembra	10 10	10	11
	Sexo Opuesto	6	Macho-Hembra	11,17	11,17	
5	Igual Sexo	2 2	Macho-Macho Hembra-Hembra	12,50 12,50	12,50	11,5
	Sexo Opuesto	6	Macho-Hembra	11,17	11,17	
6	Igual Sexo	2 4	Macho-Macho Hembra-Hembra	14 10,25	11,50	11,25
	Sexo Opuesto	2	Macho-Hembra	10,50	10,50	

f.- Serie 6.- La supervivencia media del aloinjerto es mayor cuando donante y receptor son del mismo sexo, pero ambos varones, ya que si ambos son hembras, la supervivencia media es menor que cuando el donante y el receptor son de sexo opuesto. En conjunto, dentro de esta serie la supervivencia media del aloinjerto es mayor entre animales del mismo sexo que entre animales de sexo contrario.

Si se analiza el conjunto de resultados obtenidos en las series tratadas con inmunodepresores químicos (series 2, 4, 5 y 6), se observa que en una de las series (serie 4), la supervivencia media es mayor cuando donante y receptor son de sexos opuestos, mientras que en las tres restantes (series 2, 5 y 6), la supervivencia media es mayor cuando el donante y el receptor son del mismo sexo, con un predominio, dentro de la igualdad de sexos, por los trasplantes realizados entre animales machos. La supervivencia media entre animales de distinto sexo en la serie 4 es de 11,17 días, mientras que la cifra media de supervivencia del aloinjerto en el total de animales del mismo sexo de las series 2, 5, y 6 es de 12,77 días. Dentro del total de animales del mismo sexo de estas tres últimas series, la cifra de supervivencia media del aloinjerto entre animales machos es de 13,50 días, mientras que entre animales hembras es de 12,38 días.

Si se relaciona la supervivencia media de los aloinjertos con el color predominante del pelo del receptor, los resultados obtenidos se recogen en el cuadro nº 46.

De la observación de este cuadro se deduce que en relación entre el color predominante del pelo del

CUADRO NO 46

SERIE	COLOR PREDOMINANTE PELO DEL RECEPTOR	Nº DE CASOS	SUPERVIVENCIA MEDIA SEGUN COLOR DEL PELO DEL RECEPTOR	SUPERVIVENCIA MEDIA GLOBAL
1	Blanco Negro	4 4	9 9,75	9,38
2	Blanco Negro o Canela	5 2	12,50 10,50	12
3	Blanco Negro o Canela	4 3	9,50 8,66	9,14
4	Blanco Canela o Blanco y canela	5 2	10,20 13	11
5	Blanco Negro o Canela	2 6	10 14,50	11,5
6	Blanco Negro o Canela	3 5	11,33 11,20	11,25

receptor y la supervivencia media del aloinjerto, en cada una de las series de animales estudiados, se comporta de la siguiente manera:

- a.- Serie 1.- La supervivencia media del homoinjerto es mayor en los animales de pelo negro que en los animales de pelo blanco.
- b.- Serie 2.- La supervivencia media del aloinjerto es mayor en los animales de pelo blanco que en los animales de pelo mas oscuro (negro o canela).
- c.- Serie 3.- La supervivencia media del homoinjerto es mayor en los animales de pelo blanco que en los animales de pelo mas oscuro (negro o canela).
- d.- Serie 4.- La supervivencia media del aloinjerto es menor en los animales de pelo blanco que en los animales de pelo mas oscuro. (canela o blanco y canela).
- e.- Serie 5.- La supervivencia media del homoinjerto es menor en los animales de pelo blanco que en los animales de pelo mas oscuro (negro o canela).
- f.- Serie 6.- La supervivencia media del aloinjerto es mayor en los animales de pelo blanco que en los animales de pelo mas oscuro (negro o canela).

Analizando el conjunto de resultados obtenidos en las series tratadas con inmunodepresores químicos (series 2, 4, 5 y 6), se observa que en dos de las series (series 2 y 6) la supervivencia media del homoinjerto es mayor en los animales de pelo blanco que en los animales de pelo mas oscuro (negro, canela o blanco y canela), mientras que en las dos series restantes (4 y 5) ocurre lo contrario.

Sin embargo la supervivencia media del homoinjerto en el total de animales de pelo blanco de las series 2 y 6 es de 11,91,, mientras que en el total de los animales de pelo mas oscuro de las series 4 y 5 es de 13,75. Estos hallazgos sugieren que la supervivencia del aloinjerto es mayor en los receptores de pelo oscuro que en los de pelo blanco.

La relacion entre el color del aloinjerto y el tiempo de supervivencia media del mismo en las diferentes series, queda expuesta en el cuadro nº 47.

De la observacion de este cuadro se deduce que en relacion al color del aloinjerto, la supervivencia media del mismo en cada una de las series de animales estudiados, se comporta de la misma manera:

La supervivencia media de los aloinjertos de color blanco es mayor que la de los de color negro o canela en todas las series.

La relacion entre la supervivencia media del aloinjerto y la similitud o diferencia entre el color del homoinjerto y el color predominante del receptor en las diferentes series queda expuesta en el cuadro nº 48.

CUADRO NO 47

SERIE	COLOR ALOINJERTO	Nº DE CASOS	SUPERVIVENCIA MEDIA SEGUN COLOR ALOINJER TO	SUPERVIVENCIA MEDIA GLOBAL
1	Blanco Negro	4 4	9,75 9	9,38
2	Blanco Negro o canela	5 2	12,8 10	12
3	Blanco Negro o canela	4 3	9,5 8,6	9,14
4	Blanco Canela	6 1	11,16 10	11
5	Blanco Negro o Canela	3 5	12 11,2	11,5
6	Blanco Negro o canela	3 5	11,66 11	11,25

CUADRO N° 48

SERIE	COLOR ALOINJERTO / COLOR RECEPTOR	SUPERVIVENCIA MEDIA ALOINJERTO	SUPERVIVENCIA GLOBAL
1	Igual Diferente	8 casos 9,38	9,38
2	Igual Diferente	2 casos 5 casos 15 10,80	12
3	Igual Diferente	1 caso 6 casos 12 8,66	9,14
4	Igual Diferente	5 casos 2 casos 11,60 9,50	11
5	Igual Diferente	8 casos 11,5	11,5
6	Igual Diferente	2 casos 6 casos 10,50 11,50	11,25

De la observacion de este cuadro se deduce que en todas aquellas series en las que existe similitud de color entre aloinjerto y receptor, la supervivencia media de aquel es mayor (si se exceptúa la serie 6) que en estas mismas series (serie 2, 3, 4) cuando existen diferencias entre los colores del pelo del homoinjerto y del receptor. En las series 1 y 5 ninguno de los animales integrantes de las mismas mostraba similitud de color entre el aloinjerto y el receptor.

En las series de animales tratados con inmunodepresores químicos en las que cabe la posibilidad de similitud o diferencia entre los colores del aloinjerto y del receptor (series 2 y 4 y 6), en las series 2 y 4 la supervivencia media del aloinjerto es mayor cuando éste y el receptor son del mismo color, mientras que en la serie 6 ocurre lo contrario.

La cifra de supervivencia del aloinjerto en todos los animales de las series 2 y 4 con homoinjerto del mismo color que el receptor es de 12,57 días, mientras que la supervivencia media del injerto en los animales de la serie 6 con diferencia de color entre el aloinjerto y el receptor es de 11,5 días.

En resumen el analisis de los resultados expuestos se deduce:

- 1.- La efectividad de los inmunodepresores químicos para demorar la presentación del rechazo de aloinjerto cutáneos en el cobaya.
- 2.- Duda sobre la efectividad de la heparina para conseguir el mismo fin.
- 3.- La supervivencia máxima de homoinjertos cutáneos en animales tratados con inmunodepresores químicos depende de numerosos factores. Teniendo en cuenta alguno de estos factores aisladamente, sin analizar la influencia de otros muchos factores conco-

minantes, puede establecerse que:

- a.- La supervivencia máxima del aloinjerto en relacion con el sexo del receptor, posiblemente es mas frecuente cuando aquel es hembra que cuando es macho.
 - b.- Considerando aisladamente el sexo del donante del aloinjerto, la diferencia de posibilidades de supervivencia máxima del mismo es pequeña para donantes machos y donantes hembras, siendo ligeramente mas favorable para estos.
 - c.- Si se consideran simultaneamente el sexo del donante y del receptor, la posibilidad de obtener una supervivencia máxima del aloinjerto es mayor cuando el donante y el receptor son de sexos opuestos, o ambos son machos, que cuando ambos son hembras.
 - d.- Por el color predominante del pelo del receptor las posibilidades de supervivencia máxima del aloinjerto cutáneo muestran escasas diferencias entre receptores de pelo blanco o receptores de pelo mas oscuro (negro o blanco y canela), si bien aumentan ligeramente en estos.
 - e.- Por el color del aloinjerto parecen existir mayores posibilidades de supervivencia máxima para los homoinjertos blancos que para los negros.
 - f.- Si se consideran simultáneamente el color del receptor y del aloinjerto las posibilidades de supervivencia máxima de este son mayores cuando ambos son del mismo color que cuando son diferentes.
- 4.- Del analisis de la supervivencia media de los aloinjertos en el conjunto de animales de las diferentes series tratadas con inmunodepresores, en relacion con diversos factores aislados puede establecerse.

- a.- En relacion con el sexo del receptor la supervivencia es mayor en los animales macho que en los animales hembra, aunque no parece influir este factor de un modo decisivo.
- b.- Relación con la igualdad o diferencia de se entre donante y receptor, la supervivencia es mayor cuando ambos son del mismo sexo - que cuando son de diferentes sexos. Dentro de la igualdad de sexos la supervivencia es mayor cuando el donante y el receptor son machos que cuando ambos son hembras.
- c.- En relacion con el color predominante del receptor la supervivencia es mayor en los receptores de pelo mas oscuro (negro o canela) que en los receptores de pelo blanco.
- d.- En relacion con el color del aloinjerto la supervivencia de los homoinjertos blancos es mayor que la de los de color negro o canela.
- e.- En relacion con la igualdad o diferencia de color entre el aloinjerto y el pelo - del receptor la supervivencia es mayor cuando existe similitud que cuando existe discrepancia.

B.- AUTOINJERTOS.

El autoinjerto llevó una evolución desfavorable en 11 casos, terminando por desprenderse en 10 animales y en el otro animal (caso nº 21), que murió a los 9 días, el aspecto que ofrecía el autoinjerto era tan malo que hacía prever un desprendimiento inminente, por lo que también ha sido incluido entre los casos desfavorables.

La distribución de los casos con evolución desfavorable del aloinjerto dentro de las distintas series ha sido la que se expone en el cuadro nº 49.

Las series 2,3 y 4 han sido consideradas integradas por 7 animales cada una, ya que tres cobayas, uno perteneciente a cada una de las series mencionadas murieron precozmente antes de que pudiera valorarse la evolución completa del autoinjerto. Por este motivo, el número de animales sometidos a observación de la evolución del autoinjerto ha sido de 45 en lugar de 48 que componen las 6 series.

De la observación del cuadro nº 49 pueden hacerse algunas consideraciones interesantes:

- 1.- De los 45 autoinjertos observados, en 11 ocasiones se produjo una evolución desfavorable del mismo, lo que representa un 24,44 % de los casos.
- 2.- Dentro de cada una de las series, la evolución del autoinjerto puede considerarse como óptima en la serie 5, sin ningún fracaso; como excelente en la serie 1 con un 12,5 % de evoluciones desfavorables; como muy buena en las series 2 y 4, con un 14,28 % de fracasos; como buena en la serie 6 con un 25 % de evoluciones desfavorables; y como pésima en la serie 3 con un 85,71 % de los fracasos.

CUADRO Nº 49

SERIE	Nº DE CASOS	%	CASO Nº	DESPRENDIMIENTO DEL AUTOTRANSFERTO (días)	BIOPSIAS PREVIAS	RECHAZO DEL HOMOTRANSFERTO
1	1	12,50	2	8 días	No	7 días
2	1	14,28	10	10 días	No	14 días
3	6	85,71	18	10 días	Si	12 días
			19	10 días	No	7 días
			20	8 días	No	7 días
			21	9 días (?)	Si	7 días
			22	8 días	No	9 días
			24	10 días	No	10 días
4	1	14,28	28	12 días	No	10 días.
6	2	25	42	13 días	No	9 días
			45	10 días	No	11 días

Haciendo abstracción de las series 1 y 3, en el resto de las series, que son las tratadas con inmunodepresores químicos, la evolución del autoinjerto puede considerarse como muy buena.

3.- Comparando los días de supervivencia del autoinjerto con los del aloinjerto puede establecerse en las distintas series:

a.- Serie 1.- La supervivencia del autoinjerto fue mayor que la del aloinjerto. j

b.- Serie 2.- La supervivencia del autoinjerto fue menor que la del aloinjerto.

c.- Serie 3.- En tres casos la supervivencia del autoinjerto fue mayor que la del homoinjerto; en un caso la supervivencia de ambos tipos de injerto fue igual; y en los dos casos restantes, la supervivencia del autoinjerto fue menor que la del aloinjerto.

Calculando la supervivencia media de los autoinjertos con evolución desfavorable y la supervivencia de los aloinjertos de los mismos animales de esta serie puede establecerse que la supervivencia media es mayor para los autoinjertos (9, 16 días) que para los homoinjertos (8,66 días).

En dos de los casos de esta serie (33,33 %) la evolución desfavorable de los autoinjertos fue precedida de la práctica de biopsias cutáneas.

d.- Serie 4.- La supervivencia del autoinjerto fue mayor que la del aloinjerto.

e.- Serie 6.- La supervivencia del autoinjerto fue mayor que la del aloinjerto en un caso y en el otro caso ocu-

rrio lo contrario. Calculando la supervivencia media de los aloinjertos y homoinjertos de los dos animales considerados en esta serie, puede establecerse que la supervivencia media es mayor para los autoinjertos (11,5 días) que para los aloinjertos (10 días).

4.- Comparando la evolucion del autoinjerto con la del aloinjerto dentro de las series tratadas con inmunodepresores químicos (series 2, 4 y 6) y calculando la supervivencia media para ambos tipos de injerto, se observa que, la supervivencia media del autoinjerto (11,25 días) fue ligeramente superior a la del homoinjerto (11 días).

La interpretación de la evolucion desfavorable de los autoinjertos en las animales integrantes de las diferentes series puede hacerse de la manera siguiente:

a.- Serie 1.- El caso nº 2 corresponde a un animal que no recibió droga alguna y que murió a los 17 días, quizá por una reaccion de injerto-contra-huesped, como trataremos de establecer despues, aunque resulta difícil de concebir.

Fue un animal que sufrió una etapa post-operatoria llena de vicisitudes, con adelgazamiento progresivo y masl estado general hasta que sobrevino la muerte.

Posiblemente la evolucion desfavorable del autoinjerto en este caso pueda interpretarse como debida a:

- 1.- Deficit en los factores mas elementales para la cicatrizacion de las heridas: hipoproteinemia, anemia, deficit vitaminico etc.
- 2.- Al existir un deficit metabólico, posiblemente el animal tuviese disminuido su competencia inmunológica, lo que permitiría la colonizacion del huesped por los

linfocitos del donante presentes en los vasos del dermis del injerto, conviviendo durante un cierto tiempo con los del receptor en una situación de quimerismo. En un momento dado los linfocitos del donante toman la hegemonia inmunológica del receptor y comienzan por actuar sobre aquellos tejidos considerados como "extraños". (el aloinjerto en este caso). Posteriormente la acción de los linfocitos sensibilizados del donante, centrarían su atención en otro área débil del receptor, correspondiente al lecho del aloinjerto, originando la necrosis de la pared abdominal que muestra el animal al morir.

b.- Serie 2.- El caso nº 10 corresponde a un animal tratado con cortisona que presentó una complicación séptica post-operatoria, con formación de una escara cutánea abdominal y grave afectación del estado general.

Posiblemente la afectación infectiva y la desnutrición inmediata fueron responsables de la evolución desfavorable del autoinjerto.

c.- Serie 3.- En todos los animales de esta serie hubo manifestaciones hemorrágicas de mayor o menor intensidad. Todos ellos, cuando se desprendió el autoinjerto exhibían un lecho como de bordes cortados a pico, con tendencia escasa a la cicatrización y un fondo sangrante o con exudado sero-sanguinolento, por lo que es fácil imaginar la presencia de acúmulos hemáticos bajo los autoinjertos que, interfiriendo la normal biología del injerto, originan su evolución desfavorable.

En tres de los seis casos, la afectación del estado general como consecuencia directa (hemorragia visceral) o indirecta (infección de derrames hemáticos) de la alteración de la coagulación sanguínea, fue tal que en periodos variables de tiempo los animales sucumbieron. Cabe presumir que la hipoproteínea, la anemia y la infección jugaron un papel importante en la evolución desfavorable de los autoinjertos.

En dos de los seis casos se realizaron biopsias previas al desprendimiento de los autoinjertos, lo que quizás haya también influido en su evolución desfavorable, ya que si el injerto mostraba una vitalidad comprometida, el riesgo de infección es mayor y por otra parte si el injerto muestra cierto endurecimiento es posible que sufra un movimiento de basculación al apoyar el instrumento de corte, despegándole total o parcialmente de su lecho, en el momento de realizar la biopsia.

d.- Serie 4.- El caso nº 28 corresponde a un animal tratado con azatioprima y que murió a los 19 días como consecuencia de una complicación séptica (neumonía). Durante el post-operatorio el animal sufrió diversas complicaciones (diarrea, aborto, hemorragia vagina, etc.).

Como causas de la evolución desfavorable de autoinjerto, cabe pensar en la influencia de la infección de la desnutrición y de las contracciones musculares abdominales durante el aborto.

a.- Serie 6.- La evolución desfavorable de los autoinjertos en los casos nº 42 y 45 debe ser interpretada como consecuencia de trastornos hemorrágicos, secundarios al empleo de la ciclofosfamida. En ambos casos, se produjo hemorragia al 10º día en el área del autoinjerto, seguida de desprendimiento inmediato del injerto en el caso nº 45 y desprendimiento del injerto tres días después de la hemorragia en el caso nº 42.

Ambos animales presentaron grave afectación del estado general que les condujo a la muerte por hemorragia pleural grave a los 15 días al animal nº 45, y por causa desconocida a los 16 días al animal nº 42.

De los 11 casos que presentaron una evolución desfavorable del autoinjerto, 7 animales (63,63 %) presentaron alguna complicación de tal magnitud que les condujo a la muerte.

II.- HALLAZGOS HISTOPATOLOGICOS

A.- HOMOINJERTOS.-

a.- Serie 1.- A los tres dias, ha desaparecido prácticamente la epidermis del injerto y la colágena del dermis conserva su estructura cuando se examina con luz polarizada. La piel circundante al injerto tiene un aspecto normal, sin que existan infiltrados celulares importantes (algunos polinucleares aislados).

A los siete dias el injerto se reduce a una masa hialina, observandose en el lecho una importante infiltracion de polinucleares y algunas áreas hemorrágicas. La epidermis de la piel del receptor está engrosada pero con pocas mitosis y el dermis presenta una reaccion granulomatosa con abundantes celulas epitelioides, y algunas macrófagos y polinucleares. Existe una neoformacion vascular importante.

A los 9 dias en el dermis próximo al injerto se observa una discreta invasion linfocitaria y una reaccion granulomatosa intensa con muchas células epitelioides y escasos linfocitos. Persiste la neoformacion vascular y la epidermis muestra una notable proliferacion con formacion de queratina eosinofila. Se inicia una reaccion fibroblástica notable.

En un aloinjerto desprendido espontáneamente de su lecho a los 11 dias, se observa que la epidermis ha desaparecido por completo y el dermis tiene un aspecto homogéneo y está intensamente infiltrado por polinucleares.

A los 12 dias existe una intensa reaccion fibroblástica en el dermis y lecho del injerto.

A los 17 dias la epidermis de la piel del receptor está en grosada y forma queratina eosinofila; es muy notable la proliferacion fibroblastica del dermis.

b.- Serie 2.- A los tres dias ha desaparecido la epidermis del injerto, que aparece sustituida por una banda basófila. El dermis esta edematoso. La piel próxima al injerto no ofrece modificaciones de interés, pero está infiltrada por abundantes polinucleares, sobre todo neutrófilos y en menor número eosinófilos.

A los 7 dias el injerto está casi totalmente necrosado, aunque todavia se observan algunos nucleos en los folículos pilosos. El dermis de la piel próxima al injerto esta infiltrada por eosinófilos, algunos linfocitos y en menor grado neutrófilos, existiendo algunas colonias de cocos. En el lecho del injerto: reaccion granulomatosa con abundantes células epitelioides.

A los 9 dias esta infiltrado por abundantisimos polinucleares, neutrofilos y hay una intensa proliferacion de gérmenes.

A los 12 dias el dermis del lecho del injerto muestra una intensa proliferacion fibroblastica, con abundantes células epitelioides, y existe una regeneracion epidermica a expensas del epitelio del receptor.

c.- Serie 3.- A los tres dias la epidermis del injerto conserva alguna célula de su capa basal y el resto esta sustituido por una banda basófila. Dermis del injerto bien conservado. La piel próxima al injerto exhibe una discreta infiltra-

ción de linfocitos y algunos áreas de extravasación hemática, lo mismo que en el lecho del injerto.

A los 7 días el injerto esta totalmente necrosado e invadido por cocos. Ha desaparecido la epidermis de la piel próxima al injerto y el dermis esta infiltrado por polinucleares neutrófilos. Se inicia una reacción granulomatosa con células epitelioides.

A los 9 días la epidermis de la piel próxima al injerto está adelgazada y en el dermis se observa una infiltración por linfocitos y en su parte mas profunda una reacción granulomatosa con abundantes fibroblastos.

A los 12 días el dermis próximo al injerto está infiltrado por células redondas (linfocitos sobre todo). El lecho del injerto está formado por un tejido de granulación rico en vasos y células epitelioides, con escasos fibroblastos y tapizado por un epitelio plano estratificado.

A los 15 días sobre el lecho del injerto no existen fragmentos del mismo o solo existen pequeños restos que sirven de morada a abundantes colonias de gérmenes.

A los 30 días ya existe una epidermis con varios estratos celulares y queratina basofila, que asientan sobre un tejido conjuntivo joven con muchos fibroblastos, áreas de extravasación hemática y macrófagos cargados de hemosiderina.

d.- Serie 4.- A los tres días el injerto esta infiltrado por polinucleares neutrófilos y en el dermis de la piel próxima existe una infiltración por las mismas células y se observan grandes áreas hemorrágicas.

A los 7 días el injerto esta necrosado e invadido por polinucleares. En el dermis de la piel próxima al injerto se observa un discreto infiltrado linfocitario.

citario. El lecho del injerto esta constituido por un tejido de granulacion con células epitelioides, macrófagos y en menor cantidad linfocitos.

A los 12 dias persiste una infiltracion linfocitaria del dermis próximo al injerto. Existe una proliferacion fibroblastica que soporta una epidermis neoformada.

A los 19 dias el lecho del injerto esta integrado por un tejido de granulacion rico en fibroblastos. Se observan colonias de gérmenes y parasitación de macrófagos por tales gérmenes.

e.- Serie 5.- A los 3 dias el injerto ha perdido la epidermis que aparece - sustituida por una banda basofila; el dermis ha perdido su estructura y muestra una infiltracion celular con células redondas y fusiformes. El dermis profundo de la piel proxima al injerto esta infiltrado por células mononucleadas fundamentalmente.

A los 7 dias existe un discreto infiltrado linfocitario del dermis superficial de la piel próxima al injerto y una proliferacion marcada del epitelio - epidermico. Hay una escasa reaccion granulomatosa con algunas células epitelioides. El injerto presenta la colágena edematizada.

A los 12 dias lo mas llamativo es la presencia de algunas zonas de necrosis en el tejido conjuntivo del dermis próximo al injerto. Reaccion granulomatosa mas intensa con abundante proliferacion fibroblastica en el lecho del injerto.

f.- Serie 6.- A los 3 dias el dermis de la piel proxima al injerto esta muy congestivo mostrando áreas de -- extravasacion hemática e infiltracion por células mononucleares.

A los 7 dias el injerto esta necrosado e invadido por polinucleares. En el dermis próximo al injerto

se observan algunos linfocitos aislados; la epidermis esta poco proliferada y la reaccion granulomatosa del lecho es muy escasa.

A los 12 dias existe un intenso infiltrado por linfocitos en el dermis de la piel próxima al injerto y otros tipos celulares (celulas epitelioides, celulas gigantes, polinucleares) en menor cuantia. La epidermis está engrosada y con queratina eosinofila.

A los 15 dias el lecho del injerto está constituido por un tejido rico en fibroblastos, con abundantes macrófagos cargados de hemosiderina. Epidermis neoformada desde la piel del huesped.

En líneas generales la evolucion histopatológica del aloinjerto, a grandes rasgos, es como sigue:

A los 3 dias desaparicion mas o menos completa de la epidermis del injerto, que es sustituida por una banda basofila. El dermis está mas o menos desestructurado, según las circunstancias. El dermis de la piel próxima al injerto ofrece una infiltracion celular de características cualitativas y cuantitativas variables, pero su arquitectura es normal.

A los 7 dias el injerto esta total o parcialmente necrosado y reducido a una masa hialina. La epidermis de la piel próxima al injerto esta mas o menos engrosada y con mas o menos actividad celular. El dermis y el lecho del injerto exhiben una reaccion granulomatosa con diferentes tipos celulares, segun los casos. En algunas circunstancias se observa una neoformacion vascular importante.

A los 12 días lo más llamativo es una reacción ----- fibroblástica en el lecho del injerto, ya desaparecida, y una proliferación epitelial a expensas de la epidermis de la piel próxima al injerto que trata de cubrir la solución de continuidad originada por el rechazo del aloinjerto.

Esta es, a grandes rasgos, la evolución del aloinjerto y su lecho, que en nuestra experiencia, no lleva un curso tan esquemático como el establecido por PEREZ TAMAYO et al. (219) y representado en la figura nº 5.

En algunos casos se ha encontrado una gran proliferación de gérmenes en las áreas del injerto o su lecho, lo que puede interpretarse como un efecto secundario del empleo de los inmunodepresores. En algunos casos se han encontrado extravasaciones hemáticas de cierta consideración, lo que también puede etiquetarse como efecto secundario al uso de algunas de las drogas (heparina, azatioprina, ciclofosfámi- da). En comparación con la serie testigo, la neoformación vascular ha sido menos importante en las series tratadas con inmunodepresores. En líneas generales la evolución es más lenta en las series con inmunodepresores que en la serie testigo.

B.- AUTOINJERTOS.-

a.- Serie 1.- La evolucion cronológica del autoinjerto en la serie testigo, que es la que podemos considerar como normal, se ajusta mas a la descrita por PEREZ TAMAYO et al (219) (figura nº 4) y es como sigue:

A los 3 dias el injerto ha perdido la epidermis y queda sustituido por una banda basófila. El dermis del mismo conserva su estructura pero está edematoso. La piel próxima al injerto, en algunas zonas esta adelgazada mientras que en otras se observan algunas mitosis en la capa basal; en el dermis superficial se observa un discreto infiltrado de células mononucleares y polinucleares. Escasa neoformacion vascular.

A los 7 dias la epidermis de la piel próxima al injerto presenta un marcado engrosamiento, contandose en alguna zonas hasta 9 capas celulares, con abundantes mitosis y queratina eosinofila. Esta epidermis vascular, macrófagos, células epitelioides y algun fibroblasto.

A los 9 dias el lecho del injerto está formado por un tejido de granulacion con abundantes tipos celulares. Existe una gran neoformacion vascular y una intensa proliferacion fibroblastica. La epidermis de la piel próxima al injerto esta muy proliferada y exhibe una queratina eosinofila.

A los 12 dias la epidermis del injerto casi ha desaparecido, pero el dermis conserva bien la colágena que sustentará el epitelio neoformado procedente de la piel vecina.

A los 17 días el dermis muestra una intensa proliferación fibroblástica y neoformación vascular. Sobre el dermis aparece una epidermis neoformada con cuatro o cinco estratos celulares.

b.- Serie 2.- Los autoinjertos de la serie 2 muestran una evolución similar en el examen realizado a los 3 días, pero en el infiltrado del dermis de la piel próxima al injerto y en el dermis de este predominan los polinucleares y no se ven mitosis en la epidermis del huesped.

A los 7 días existe una reacción inflamatoria con abundantes polinucleares y linfocitos en la región limitrofe del injerto con la piel del huesped, observándose además colonias de cocos. La reacción granulomatosa es menor que en la serie 1.

A los 9 días la reacción granulomatosa es escas y el dermis y epidermis de la piel próxima al injerto están adelgazadas.

A los 12 días el injerto está lleno de detritus de polinucleares. En el dermis de la piel próxima al injerto se observa una reacción granulomatosa con células epitelioides, macrófagos, algunos linfocitos y células gigantes, y escasas fibroblastos. La epidermis de la piel próxima al injerto exhibe un mamelon de crecimiento asentado sobre el tejido de granulación.

c.- Serie 3.- A los 3 días el injerto está mejor conservado, tanto en la epidermis como en el dermis, que en la serie testigo. En el dermis próximo al injerto existen pequeñas extravasaciones hemáticas.

A los 7 días (la primera biopsia, a los 3 días, se tomó sobre este mismo injerto), los bordes del injerto aparecen casi totalmente necrosados y se observa infiltración de células mononucleares y polinucleares, así como numerosas colonias de gérmenes. En

el dermis de la piel próxima al injerto aparece infiltrada por células redondas fundamentalmente, siendo muy exccasa la reaccion granulomatosa.

A los 9 dias se observa proliferacion vascular y fibroblástica como a la serie testigo, así como formacion de lengüeyas epidérmicas neoformadas procedentes del epitelio de la piel vecina.

A los 12 dias (biopsia procedente del mismo injerto que donó las muestras a los 3 y 7 dias) se observa un tejido de granulacion en el lecho del injerto con diversas clases celulares, pero con escasa tendencia a la proliferacion del epitelio de la piel vecina.

A los 15 y 30 dias el estudio de los lechos de autoinjertos desprendidos con anterioridad, muestran la presencia de areas hemorrágicas en el dermis y proliferacion epidérmica en el primer caso y epidermis con tres o cuatro estratos celulares en el segundo caso.

d.- Serie 4.- A los 3 dias el injerto ofrece el mismo aspecto que en la serie testigo, observandose algunas zonas de neformacion vascular y hemorragia en el lecho del mismo. En el dermos de la piel próxima al injerto se observan igualmente algunas áreas de extravasacion hemática.

A los 7 dias el injerto esta parcialmente necrosado e infiltrado por polinucleares. Existe una discreta reaccion granulomatosa con células epitelioides y macrófagos.

A los 12 dias el lecho del injerto y la zona de piel próxima presentan una intensa reaccion fibroblastica, con abundantes vasos neoformados que llegan hasta el injerto parcialmente necrosado y se inicia una proliferacion epitelial procedente de los bordes de la piel próxima al injerto.

A los 19 días existe una epidermis neoformada que asienta sobre un tejido de granulación rico en fibroblastos. En el dermis se observan macrófagos - con hemosiderina y hemorragias múltiples y difusas.

e.- Serie 5.- A los 3 días el aspecto histológico es similar al de la serie testigo.

A los 7 días la reacción granulomatosa en el lecho del injerto es escasa.

A los 12 días existe una proliferación de tejido - conjuntivo joven en el lecho del injerto que solidariza este y neoformación vascular.

f.- Serie 6.- A los 3 días su aspecto es similar al de la serie testigo.

A los 7 días el injerto está parcialmente necrosado e infiltrado de polinucleares. La reacción granulomatosa en el lecho del injerto es escasa.

A los 12 días existe una intensa proliferación fibroblástica y neoformación vascular en el lecho del injerto, y dermis de la piel próxima al mismo. La epidermis de esta, está engrosada y exhibe abundantes mitosis en su capa basal, mostrando una queratina - eosinofila.

De un modo general, las diferencias histopatológicas en los autoinjertos de animales pertenecientes a distintas series con respecto a los autoinjertos de la serie testigo, vienen marcados más que por diferencias cualitativas por aspectos cuantitativos y sobre todo por una evolución cronológica diferente, al menos durante la etapa evolutiva comprendida entre los 3 y los 12 días. En general los autoinjertos de las series tratadas con inmunodepresores muestran un retraso en la aparición del tejido de granulación del lecho del injerto u del dermis de la piel próxima al injerto en comparación con la abundancia de este tejido en los injertos de la serie control a los 7 días - y por otra parte su desarrollo es menor.

En los autoinjertos de las series 2 y 3 se encontraron colonias de gérmenes, que bien pueden deberse a manipulaciones por biopsias sucesivas o a contaminación de un terreno predispuesto por el uso de drogas.

En las biopsias de las serie 3 y 4 con frecuencia se encontró la presencia de áreas hemorrágicas.

En líneas generales, a pesar de haber empleado este método en nuestro estudio, el procedimiento de las biopsias periódicas tiene grandes inconvenientes, que podemos reunir en dos aspectos fundamentales:

- 1.- Si todas las biopsias se realizan sobre un mismo injerto, cosa que en principio parece lógica, solamente serán fidedignos los hallazgos de la primera, ya que como consecuencia de su práctica repetida los hallazgos en biopsias sucesivas pueden deberse, no solo a la evolución natural del injerto, sino también, fundamentalmente, a las modificaciones sobreañadidas a la biología del mismo como consecuencia de la manipulación. Por otra parte los riesgos de contaminación tras manipulaciones sucesivas aumentan notablemente.

- 2.- Si cada biopsia se realiza en un animal distinto teniendo en cuenta las diferencias biológicas individuales, las divergencias en los hallazgos puede ser muy notable. Sin embargo creemos que este segundo procedimiento es mejor que el primero, pues del conjunto de observaciones individuales puede establecerse una observación general.

Aunque en nuestro estudio hemos utilizado ambos procedimientos, sin duda hemos realizado más biopsias — ateniéndonos al primer método por temor a que si utilizábamos varios animales de una misma serie y — tras la primera biopsia interferíamos sobre la evolución de los injertos, podíamos perder casos de observación morfológica de los mismos.

C.- OTROS HALLAZGOS HISTOPATOLOGICOS

Se refiere a los encontrados en órganos procedentes de animales que murieron durante el periodo de observación, por motivos diversos.

- 1.- BAZO.- Se estudió el bazo de un animal normal no incluido en ninguna de las series y el mismo órgano procedente de 10 animales, pertenecientes a -- distintas series, que se recogen en el cuadro nº 50.

De los bazos estudiados, comparados con el examen previo de un bazo normal, los hallazgos positivos, dignos de mencionarse que se obtuvieron son los siguientes:

- Caso nº 2.- Lo mas significativo fue un aumento de los linfocitos foliculares y la presencia de macrófagos cargados de hemosiderina a su alrededor.
- Caso nº 9.- Lo mas significativo fue la hiperplasia de los centros germinativos de los folículos linfoides, rodeados de una delgada capa de pequeños linfocitos.
- Caso nº 17.- Abundantes ,acrófagos cargados de hemosiderina.
- Caso nº 21.- Abundantes macrófagos cargados de -- hemosiderina, y discreta disminución de los linfocitos foliculares.
- Caso nº 19.- Disminución de linfocitos foliculares y aumento de formas blasticas interfoliculares.

CUADRO N° 50

ESTUDIO HISTOPATOLOGICO DE BAZO Y SUPRARRENALES		
SERIE	CASO N°	CRONOLOGIA DE LA MUERTE
1	2	17 dias
2	9	24 horas
3	17	2 dias
	21	9 dias
	19	15 dias
	24	30 dias
4	27	3 dias
	28	19 dias
	45	15 dias
6	42	16 dias

Caso n° 24.- Intensa congestión esplénica.

Caso n° 27.- Intensa congestión venosa, con hiperplasia de los centros germinativos de los folículos linfoides.

Caso n° 28.- Disminución de tamaño de los folículos linfoides, proliferación de células del retículo y presencia de macrófagos cargados de hemosiderina.

Caso n° 45.- Aumento de los tractos conjuntivos con disminución de la población celular habitual. Macrófagos cargados de hemosiderina.

Caso n° 46.- Abundantes macrófagos cargados de hemosiderina.

2.- SUPRARRENALES.- Se empleó como testigo la suprarrenal de un animal normal no incluido en ninguna de las series.

En los mismos animales en que se hizo el estudio histopatológico del bazo, se realizó al mismo tiempo el estudio de las glándulas suprarrenales, por lo que la procedencia de estos órganos, la misma que la reseñada para el bazo, queda expuesta en el cuadro n° 50.

Los hallazgos positivos se hicieron en los siguientes casos:

Caso n° 21.- Microhemorragias tanto en la zona medular como en la cortical. Congestión venosa.

Caso n° 19.- Intensa infiltración de células blásticas y células plasmáticas en los capilares y en el intersticio.

Caso n° 24.- Hemorragias microscópicas difusas por todo el órgano.

Caso n° 27.- Pequeñas extravasaciones hemáticas en la cortical.

CASO N° 28.- Pequeños focos hemorrágicos difusos en la cortical.

Caso n° 42.- Hemorragias microscópicas difusas por todo el órgano.

3.- TIMO.- El timo fue estudiado en los casos n° 2, 17, 19, 21, 24, 27 y 28, sin que en ninguno de los casos se obtuviesen hallazgos dignos de mención, al ser comparados con el estudio de un timo normal procedente de un animal no incluido en ninguna de las series.

4. PULMON.- Fue estudiado en los casos n° 19, 24 y 28 con el siguiente resultado:

Caso n° 19.- Infiltración hemática reciente, con inundación de los alveolos, que presentan una pared engrosada y contienen abundantes macrófagos.

Caso n° 24.- Los hallazgos histopatológicos corresponden a una bronconeumonía.

Caso n° 28.- El mismo resultado que en el caso anterior.

5. HIGADO.- Fue estudiado en los casos n° 24, 28, 42 y 45 y el único hallazgo positivo se obtuvo en el caso n° 28, en el que se observó una degeneración grasa.

6.- PIEL Y MUSCULOS DE TORAX Y CUELLO.- Se estudiaron en el caso nº 27 observan-

do una intensa proliferacion de gérmenes y polinucleares.

La importancia de los hallazgos histopatológicos expuestos en este apartado, seran comentados al estudiar las causas de muerte en un epigrafe siguiente.

III.- EFFECTOS SECUNDARIOS Y COMPLICACIONES

A.- DE LA ANESTESIA.- En la exposicion de los resultados obtenidos quedo referida la muerte de dos animales, no incluidos en ninguna de las series, como consecuencia directa de la anestesia.

B.- DEPENDIENTE DE OTROS FACTORES.- Vamos a comentar individualmente, aquellos casos que en algún momento evolutivo presentaron alguna complicacion, tratando de establecer su origen:

Caso nº 2.- La evolucion de este animal fue complicada desde el primer momento. Resultando lo mas llamativo de la misma, podemos resumirla de la siguiente manera:

a.- Desde el dia siguiente a la realizacion de los trasplantes el animal esta "triste", permanece inactivo en un rincon de la jaula y come po-

- b.- Adelgazamiento progresico.
- c.- Desde el quinto dia se le cae el pelo, que muestra un aspecto fragil en comparacion con el del resto de los animales de la serie.
- d.- Inicia un rechazo precoz del homoinjerto al cuarto dia, que sin embargo no se da completo hasta el setimo dia.
- e.- El animal, permanentemente, adopta una postura caracteristica en la jaula: arque el dorso aproximando las patas traseras y delanteras, erizandosele el pelo.
- f.- Al octavo dia se desprende el autoinjerto.
- g.- Desde este mismo dia, el animal, sometido a -- la misma dieta que a los demas animales -- integrantes de las demas series y a las mismas condiciones ambientales, presenta diarrea que viene a complicar aun mas la situacion.
- h.- A los trece dias los lechos de los injertos estan cicatrizados completamente.
- i.- A los 17 dias el animal presenta una necrosis de la pared abdominal a nivel del primitivo emplazamiento del homoinjerto, que llega incluso a perforar el peritoneo y muere.

Desde el punto de vista clinico la evolucion de este caso recuerda muchisimo a la "enfermedad de desgaste" que aparece en el animal recién nacido al que se le practica una timectomia neo-natal, y tambien a una reaccion de injerto-contrahuesped (G.V.H.R.), por lo que en principio esta complicacion puede ser etiquetada como inmunológica. Según BRUNE (1970) (33), para que se produzca una G.V.H.R. se necesita:

- 1.- Que el injerto contenga un número suficiente de células inmunocompetentes vivas.
- 2.- Diferencia antigénica entre injerto y receptor, en el sentido de que este contenga antígenos que no posea aquel.
- 3.- Situación de incompetencia inmunológica del receptor.

Existen varias modalidades de G.V.H.R. que pueden clasificarse en:

- 1.- G.V.H.R. homologas generalizadas: Cuando las células inmunocompetentes del injerto son homologas con el receptor. Dentro de este grupo existen dos modalidades:
 - a.- Enfermedad homologa ("homologous disease"), que aparece cuando a animales inmunologicamente tolerantes se les inyectan linfocitos homologos.

Existen dos subvariedades; según la clase de receptor tolerante elegido:

- i.- Enfermedad enana o enfermedad de los enanos, ("Runt disease"): el receptor es un animal recién nacido e incluso todavía no nacido.
- ii.- Enfermedad híbrida F_1 ("F₁-Hybrid disease"): el receptor es un híbrido, descendiente directo de unos padres pertenecientes a dos cepas distintas consanguíneas puras, al que se administran linfocitos pertenecientes a cualquiera de las cepas de los progenitores.
 - b.- Enfermedad secundaria o síndrome secundario ("Secondary disease"), aparece en los receptores sometidos a una irradiación letal, a los que se trasplanta médula ósea homologa.

Su nombre se debe a que individuos afectados de una panmieloptosis accidental o deseada (radioterapia, drogas, etc.,) o aparecida por otras causas superviven de momento mediante el trasplante de médula ósea, pero mueren despues (secundariamente) como --- consecuencia de una G.V.H.R. desencadena por las células inmunocompetentes que acompañan a las células hematopoyeticas trasplantadas.

2.- G.V.H.R. localizadas.- Experimentalmente se pueden obtener cuando a un animal inmunologicamente incompetente se le inyectan en la piel linfocitos heterólogos pertenecientes a animales de otra especie. Tales reacciones se han podido obtener con determinadas combinaciones de animales. Se trata de una G.V.H.R. heterologa localizada, similar al "Test de transferencia de linfocitos normales" (G.V.H.R. homologa localizada), que origina una reaccion de tipo tuberculinico, con formacion de un nodulillo duro rodeado de un halo inflamatorio y que constituye otro ejemplo de G.V.H.R. localizada. Es decir que se puede obtener una G.V.H.R. localizada administrando células inmunocompetentes en la piel de un receptor homologo o heterologo, y tambien en la capsula renal.

Las G.V.H.R. generalizadas, que son las que nos interesan en este momento tienen una serie de manifestaciones comunes, que pueden resumirse así:

- 1.- Fase inicial hiperplásica, seguida de hipoplasia progresiva de los órganos linfoides.
- 2.- Perdida de peso y alteraciones cutaneas (dermatitis eritematosa, descamacion, engrosamiento cutaneo, caída de pelo, etc.).
- 3.- En un plazo breve de tiempo conducen a la muerte, salvo que se interfiera el curso evolutivo de la misma (inmunodepresores, S.A.L., etc.).

En ratas afectas de enfermedad homologa se ha descrito en algunos casos aislados la necrosis espontanea del rabo y el rechazo de homotrasplantes de piel (BRUNE, 1970) (33).

Teniendo en cuenta estos detalles, al menos desde el punto de vista clínico, la complicacion que sufrió nuestro cobaya nº 2 puede ser considerada como una reaccion injerto-contra-huesped generalizada.

Sin embargo resulta dificil concebir la patogenia de tal reaccion, pues cuesta trabajo aceptar la incompetencia inmunologica del receptor, ya que no se trataba de un animal recién nacido ni de un híbrido. Por otra parte este animal no estuvo sometido a la accion de las radiaciones ni de droga alguna que le hubiese producido una aplasia medular.

La unica explicacion viable, que se nos ocurre apuntar es que como consecuencia de la desnutricion progresiva, el animal en situacion de hipoproteinemia, anemia, deficit vitaminico, etc., estuviese en un estado de competencia inmunológica disminuida, permitiendo un quimerismo inmunologico en equilibrio inestable, con "triunfo" en ultima instancia, de los linfocitos del donante (aportados con el trasplante cutaneo) sobre los linfocitos del receptor desencadenando la G.V.H.R.. En este caso algunas de las manifestaciones clínicas tales como la desnutricion del animal, mas que una consecuencia de la reaccion injerto-contra-huesped habria sido la causa de tal reaccion al colocar al animal en situación "hipocompetencia" inmunológica.

Por otra parte, en ningun momento se observaron manifestaciones de G.V.H.R. localizada, ni clínica ni anatómopatológicamente.

Tambien el cuadro clínico del animal recuerda la "enfermedad por desgaste", que se presenta a las tres o cuatro

semanas de la timectomia neo-natal y que en muchos casos conduce a la muerte en un plazo de una a tres semanas (en nuestro caso en 17 días) tras su instauración. Pero nuestro caso el animal no es un recién nacido sino que su edad puede establecerse entre los 3 y 4 meses. Por otra parte antes de realizar los trasplantes cutaneos el animal no presentaba trastorno alguno y los hallazgos histopatológicos en el timo no revelaron alteraciones a menos que se tratase de un trastorno funcional sin repercusión morfológica, hipótesis muy improbable.

En la autopsia del animal se encontró un bazo de tamaño normal, que anatomopatologicamente mostraba un aumento de los linfocitos foliculares, que quizá pueda interpretarse como un estadio intermedio entre la hiperplasia y la hipoplasia, que acontece en los órganos linfoides en el curso de las reacciones injerto-contrahuesped. Las suprarrenales estaban aumentadas de tamaño y ofrecían un aspecto ligeramente congestivo, pero este hallazgo macroscópico no tuvo traducción histológica.

Retrospectivamente pensamos que cometimos un error en la necropsia de este animal y fue no realizar estudio histopatológico o hematológico de la médula ósea, que nos hubiese podido servir para descartar la existencia, de una panmieloptosis, debida a otras causas distintas de las radiaciones o las drogas.

Caso nº 9..- Este animal, cuya evolución quedó comentada en el apartado correspondiente, presentó como complicación un problema séptico que le condujo a la muerte en un plazo de tiempo poco mayor de un día.

La infección probablemente se desencadenó en el acto quirúrgico, pues el análisis histopatológico de los injertos demostró en el aloinjerto la presencia de abundantes colonias de gérmenes e intensa infiltración por polinucleares. Por otra parte en la necropsia se encontró un oque-

dad bajo el homoinjerto, debida sin duda a un error técnico por lesion del plano muscular subyacente al injerto, lo que contribuiria a la formacion de una cavidad residual por debajo del mismo, que favoreceria el acontecimiento y proliferacion de los gérmenes. La hiperplasia de los centros germinativos de los folículos esplénicos abunda en el origen microbiano de esta complicacion.

En este caso no es posible culpar a los corticoides de una responsabilidad en el cuadro del animal, ya que no habia recibido mas que dos dosis de 6-metil-predisona.

Caso nº 10.— Muy precozmente el animal presentó un exudado en el arca del homoinjerto, con maceracion de la piel circundante del borde interno del mismo y formacion de una escara abdominal ulteriores, cuya evolucion condujo a una cicatrizacion completa de la misma en 23 dias.

El origen de la infeccion tambien debe buscarse en el acto quirurgico, sobre todo teniendo en cuenta que los animales nº 9 y 10, fueron donantes entre si de los aloinjertos y que se utilizó el mismo instrumental en la intervencion de ambos y por otra parte su presentacion fue muy precoz. Sin embargo, el mantenimiento de la infeccion y la lentitud evolutiva de la escara abdominal bien puede explicarse por la administracion continuada y prolongada de corticoides.

Caso nº 14.— La pérdida del instinto materno en este animal dificilmente podemos relacionarla con el empleo de corticoides. Sin embargo es un hecho que a veces se observa en otros animales sin que exista una causa aparente.

Caso nº 17.- El animal muere en un plazo de tiempo algo mayor a los dos días, presentando desde el día siguiente a la intervención un abundante exudado sero-purulento de color amarillo-rojizo por los injertos y en pocas horas se establece un flemón difuso de la pared abdominal que determina su muerte. El origen de la infección debe buscarse en el acro quirúrgico, favorecido quizás por la existencia de colecciones hemáticas bajo los injertos como consecuencia del empleo incontrolado de la heparina.

Caso nº 18.- Todas las complicaciones observadas están estrechamente relacionadas con el empleo de la heparina, que probablemente se hubiesen evitado, o al menos atenuado, con los controles de laboratorio oportunos, permitiendo una dosificación adecuada de este fármaco.

Caso nº 19.- Presenta manifestaciones hemorrágicas variadas, que llevan a la muerte del animal por insuficiencia respiratoria como consecuencia de hemorragia pulmonar e inundación alveolar a los 15 días. Tal complicación es la consecuencia directa del empleo indiscriminado de la heparina.

Caso nº 20.- Presenta en su curso evolutivo manifestaciones hemorrágicas discretas, igualmente vinculadas al empleo de la heparina.

Caso nº 21.- Este animal murió a los 9 días de realizar los trasplantes cutáneos, habiendo presentado en el curso postoperatorio un rechazo precoz del aloinjerto (7º día) y una evolución desfavorable del autoinjerto. Igualmente presentaba un hematoma subcutáneo abdominal muy patente desde el día anterior a su muerte.

En la necropsia se observaba la salida de un asa de intestino delgado a través de un estrecho orificio en el lecho del aloinjerto, sin observarse fenómenos de necrosis parietal o de infección a este nivel. Igualmente el asa eviscerada no presentaba signos de estrangulación. Hemorragias viscerales múltiples (digestiva, pulmonar etc.) eran bien patentes tanto microscópica como macroscópicamente. Es de resaltar la gran dilatación aérea que mostraban el estómago y el intestino delgado. Este hecho puede ayudarnos a interpretar la evisceración del asa de intestino delgado a través del lecho del aloinjerto (rechazado poco tiempo antes lo que puede justificar una cierta debilidad de la pared abdominal a este nivel).

También se pensó en la posibilidad de que el animal muerto o moribundo fuese atacado por su compañero de jaula (caso nº 22) y donante del aloinjerto, como sucede en otras especies animales. Sin embargo este hecho no lo hemos observado en los cobayas.

Todas las complicaciones aparecidas en este animal están encadenadas por la acción de la heparina.

Caso nº 22..- Presenta manifestaciones hemorrágicas directamente relacionadas con el empleo de la heparina.

Caso nº 23..- Tiene discretas manifestaciones hemorrágicas debidas al uso de la heparina.

Caso nº 24..- El animal presenta manifestaciones hemorrágicas precoces, de las que se recupera bien y ulteriormente muere a los 30 días, presentando un

cuadro, macroscopicamente y
microscopicamente bien defini-
do, de bronzoneumonía.

Quizá en el determinismo de este cuadro haya jugado algún papel la heparina, que originando áreas de hemorragias pulmonar hayan podido ser colonizadas ulteriormente por gérmenes. Sin embargo desde la supresión de la heparina hasta la muerte del animal transcurrieron 22 días, aunque todavía el animal presentaba un hematoma subcutáneo abdominal, ya organizado, en el momento de su muerte.

Caso nº 26.— Presentó discreta hemorragia por el lecho del aloinjerto a los 12 días, que cedió al suprimir la medicación durante un día.

En este animal también se presentó una diarrea copiosa y un aborto de tres crías muertas con una discreta hemorragia vaginal.

Las manifestaciones aludidas creemos que deben ser atribuidas al empleo de la azatioprina.

Caso nº 27.— El animal murió a los tres días como consecuencia de un cuadro séptico, presentando un flemon difuso de la pared abdominal, emplazado inicialmente a distancia de los injertos, por lo que quizá la muerte de entrada de los gérmenes no haya sido el área de actuación quirúrgica, sino mas bien, pensamos, alguna pequeña erosión cutánea producida al depilar al animal antes de realizar los trasplantes.

Aunque en las biopsias cutaneas del material post-mortem se encontró una infiltración por polinucleares en el lecho del injerto y colonias de gérmenes en el propio injerto, dado que las lesiones mas importantes tanto clínica como microscópicamente (exámenes de piel y musculos cervico-toracicos) estaban situadas a distancia de los mismos, no creemos que fuesen los trasplantes el punto de partida de la infección.

Probablemente el empleo de la Azatioprina, al disminuir la resistencia del animal a las infecciones, hizo que una infección, quizá banal de un animal normal, determinase la muerte del que nos ocupa.

Caso nº 28.- Presento una diarrea profusa al setimo día que obligó a disminuir la dosis de Azatioprina.

A los 12 días tuvo un aborto de tres crias muertas y una hemorragia vaginal discreta y a los 14 días presentó una hemorragia también discreta por el lecho del aloinjerto.

A los 18 días presentó de nuevo un cuadro de diarrea intensa y murió a los 19 días con el cuadro anatómopatológico de una neumonía y una degeneración grasa del hígado; igualmente presentó hemorragias difusas en la corteza de las suprarrenales y una disminución de tamaño de los folículos esplénicos y proliferación de las células del retículo.

Las complicaciones presentadas por este animal, creemos pueden imputarse al empleo de la Azatioprina, favoreciendo la infección.

Caso nº 30.- Presento diarrea que cedió al disminuir la medicación.

Caso n° 31.- Tuvo una hemorragia discreta por el homoinjerto a los 9 días, y un aborto de tres crías muertas a los 13 días.

Caso n° 32.- Al sexto día presentó una escara cutánea abdominal situada en la línea media del abdomen debida probablemente a la disminución de la resistencia del animal a las infecciones, como consecuencia de su tratamiento con Azatioprina y - que llevó una evolución lenta.

Caso n° 42 A los 10 días presentó una pequeña hemorragia a nivel del autoinjerto. El animal murió a los 16 días sin que pudiese encontrarse, a la luz de los hallazgos macroscópicos y microscópicos, la causa de muerte. Únicamente en el bazo se encontró un aumento de los tractos conjuntivos con disminución de la población celular habitual, posiblemente debido al empleo de la ciclofosfamida.

Caso n° 45.- A los 10 días presentó una hemorragia por el autoinjerto y por el homoinjerto. A los 12 días presentó una diarrea intensa y el animal muere a los 16 días presentando una gran hemorragia en la cavidad pleural y microscópicamente hemorragias difusas en las capsulas suprarrenales.

Del análisis del conjunto de animales que sufrieron complicaciones se obtienen los siguientes datos:

- Número de animales estudiados: ----- 48
- Número de animales con complicaciones: -----20
(41,66 %).

-Numero de animales con complicaciones mortales:

---- 10, lo que representa:

-50 % de los animales con complicaciones.

- 20,83 % de los animales estudiados.

La incidencia de complicaciones ha sido alta y no puede dudarse de la gravedad de las mismas, ya que al 50 % de los animales que sufrió alguna complicacion, le costó la vida.

Resulta muy interesante y aleccionador el analisis de las complicaciones en cada una de las series, ya que de este modo pueden obtenerse datos mas expresivos que del analisis del conjunto y por otra parte se puede juzgar el papel de las diferentes drogas en su determinismo.

Serie 1.- Un solo animal de la serie testigo sufrió una complicacion mortal, que, con-reservas, puede etiquetarse como una reaccion de injerto contra-huesped generalizada.

La muerte pues, ocurrió en el 12,5 % de los animales de esta serie y el mismo porcentaje de animales sufrió complicaciones.

Serie 2.- Tres animales de esta serie sufrieron complicaciones, en uno de los casos mortal. Así pues la mortalidad en esta serie ha sido, como en la anterior del 12,5 %. Las complicaciones afectaron al 37,5 % de los animales integrados de esta serie.

Sin embargo la complicacion mortal no puede atribuirse

al empleo de la 6-metil-prednisolona, sino a una infeccion post-operatoria inmediata.

En los dos animales restantes, complicados uno de ellos tambien con infeccion y el otro con una pérdida del instinto materno, el papel de los corticoides en su determinismo es problematico, si bien puede atribuirseles un papel coadyuvante en el mantenimiento de la primera.

Serie 3.- Todos los animales integrantes de esta serie sufrieron complicaciones.

En siete de los ocho animales (lo que representa el 87,5 %) de la serie aparecieron manifestaciones hemorragicas de mayor o menor cuantia, por los que cabe afirmar que la heparina utilizada fue la responsable de estas complicaciones. Bien es cierto que si se hubiesen realizado controles hemáticos rutinarios para ajustar las dosis de heparina, la incidencia de complicaciones en esta serie hubiese sido menor.

En el octavo animal la complicacion surgida fue una infeccion post-operatoria inmediata y quizás la heparina haya jugado un papel favorecedor de la misma, aunque este hecho es muy problematico.

De los ocho animales con complicaciones, cuatro murieron lo que representa una mortalidad para esta serie del 50%. La heparina ha sido la responsable directa de dos de las complicaciones mortales (50% de los muertos) y ha jugado un papel problematico en las otras dos.

Así pues, la heparina ha sido responsable directa de las complicaciones hemorragicas surgidas en el 87,5 % de los animales de esta serie y del 50 % de las muertes ocurridas, interviniendo muy proble

máticamente en el otro 50 % de las muertes.

Serie 4.- Seis de los ocho animales de la serie, tratados con Azatioprina sufrieron alguna complicacion, lo que representa el 75 % de los animales de la serie.

Las complicaciones observadas pueden agruparse de la siguiente forma:

- a.- Manifestaciones hemorragicas (cutanea y vaginal): en tres casos.
- b.- Diarrea: en tres casos.
- c.- Abortos con fetos muertos: en tres casos.
- d.- Infeccion cutánea de dos casos y pulmonar en otro.

Suponemos responsable a la Azatioprina de la aparicion de abortos con fetos muertos en tres de las cinco hembras (60 % de los animales hembras). Es en la única serie de animales en que se han presentado -- abortos, lo que parece confirmar nuestra sospecha -- sobre el efecto abortígeno de la droga.

Tambien sospechamos que la Azatioprina juega un -- papel importante en el determinismo de las discretas hemorragias que aparecieron en tres casos, si bien la trombopenia, con toda probabilidad responsable de estas hemorragias se cita como un efecto secundario poco frecuente con el empleo de esta droga (MÖLLER 1970) (142).

La diarrea, presente en tres de los animales, tambien la consideramos como efecto secundario de la Azatioprina ya que aquella remite al suprimir o disminuir la do-

sis, mostrando una clara relacion causaefecto.

En cuanto a su papel en la aparicion de infecciones, cosa que sucedió en tres de los casos, puede considerarsela responsable de las mismas en dos de los casos y quizá tambien del tercero (caso nº 27), o al menos desempeñó un papel coadyuvante en la virulencia de la infección.

Dos de los animales de esta serie (25 %) murieron y la responsabilidad de la Azatioprina es muy probable en uno de ellos muerto de neumonia (caso nº 28) que ademas presentaba degeneracion grasa y del hígado, - y posible en el otro caso (caso nº 27).

En resumen la Azatioprina puede ser considerada responsable de las complicaciones surgidas en cinco de los seis animales y probablemente ha tenido influencia en la magnitud de la complicacion del sexto de los casos.

Serie 5.- No hemos observado complicaciones en los animales de esta serie.

Serie 6.- Dos de los animales de esta serie sufrieron complicaciones, lo que representa el 25 %.

Ambos animales presentaron manifestaciones hemorragicas y en uno de ellos esta fue la causa de su muerte.

En uno de los animales tambien estuvo presente un cuadro diarreico intenso que ha sido considerado como un efecto secundario de la ciclofosfamida.

La causa de muerte en uno de los animales no pudo determinarse, y la disminucion de la poblacion celular hallada

en el examen histopatológico del bazo de este animal nos induce a pensar en un posible efecto tóxico de la ciclofosfamida.

Por tanto esta droga puede ser considerada como responsable de las complicaciones acaecidas en los dos animales de esta serie, y de la muerte en uno de ellos. Su intervención en la muerte del segundo es mucho mas problemática.

Del analisis de los datos precedentes puede establecerse:

Serie.- 1.

- Animales con complicaciones: 1 (12,5 % de los animales de la serie).
- Animales muertos: 1, lo que representa:
 - 12,5 % de los animales de la serie.
 - 10 % de la mortalidad global.
 - 100 % de los animales de la serie con complicaciones.

Serie 2.-

- Animales con complicaciones: 3 (37,5 % de los animales de la serie).
- Animales muertos: 1, lo que representa:
 - 12,5 % de los animales de la serie.
 - 10 % de la mortalidad global.
 - 33,33 % de los animales de la serie con complicaciones.
 - Papel de la 6-metil-prednisolona en la aparicion de las complicaciones.
 - Coadyuvante: 1 caso
 - Problemática: 1 caso
 - Nulo: 1 caso.

Serie 3.-

- Animales con complicaciones: 8 (100 % de los animales de la serie)
- Animales muertos: 4, lo que representa:
 - 50 % de los animales de la serie.
 - 40 % de la mortalidad global.
 - 50 % de los animales de la serie con complicaciones.
- Papel de la heparina en la aparicion de las complicaciones:
 - Dêcisivo: 7 casos
 - Probelmatico: 1 caso.

Serie 4.-

- Animales con complicaciones: 6 (75% de los animales de la serie).
- Animales muertos: 2, lo que representa:
 - 25 % de los animales de la serie.
 - 20 % de la mortalidad global.
 - 33,33 % de los animales de la serie con complicaciones.
- Papel de la azatioptrina en la aparicion de las complicaciones:
 - Importante: 5 casos
 - Problematico: 1 caso.

Serie 6.-

- Animales con complicaciones: 2 (25 % de los animales de la serie).
- Animales muertos: 2, lo que representa:
 - 25 % de los animales de la serie.
 - 20 % de la mortalidad global.
 - 100 % de los animales de la serie con complicaciones.

de las complicaciones:

- Importante: 2 casos.

Haciendo abstracción de la serie 1 (testigo), en la aparición de las complicaciones las drogas utilizadas han jugado un papel:

- Importante o decisivo en 14 casos.
- Problemático en 3 casos.
- Coadyuvante en 1 caso
- Nulo en 1 caso.

De los 32 casos tratados con agentes inmunodepresores han surgido complicaciones imputables a los mismos en 10 casos, lo que representa un 31,25 % de los casos tratados, porcentaje sensiblemente menor al número global de animales complicados (41,66 %). Por otra parte la influencia de tales drogas en la génesis de las complicaciones fue importante en 7 casos problemática en dos casos y coadyuvante en un caso.--

De las 10 complicaciones mortales, haciendo abstracción de la ocurrida en la serie 1, resulta que de las nueve restantes, en cuatro las drogas empleadas han jugado un papel decisivo en otras cuatro ha sido problemático y otra su papel ha sido nulo.

Si de este análisis se excluyen las complicaciones mortales de la serie 3, resulta que de los 32 animales tratados con agentes inmunodepresores, en dos casos su influencia ha sido decisiva y en otros dos muy problemática lo que significa que la mortalidad imputable

al empleo de estas drogas representa un 12,5 % de los casos tratados a en el mejor de los casos un 6,25 %.

En los cuadros nº 51 y 52, se resume el papel jugado por las drogas empleadas en la aparición de las complicaciones en general (cuadro nº 51) y de las complicaciones mortales en particular (cuadro nº 52).

La afectación severa del estado general observada en 13 casos fue seguida de la muerte en diez animales, recuperándose tres, uno de la serie 2, otro de la serie 3 y otro de la serie 4. (casos nº 10, nº 22 y nº 26).

IV.- HALLAZGOS MACROSCOPICOS EN LAS NECROPSIAS

Este apartado no necesita ningún comentario especial, pues ya fue tratado al exponer los resultados.

CUADRO Nº 51

ANIMALES CON COMPLICACIONES		INFLUENCIA DE LAS BROGAS EN SU APARICION			
SERIE	Nº DE CASOS	Nº DE CASOS			
		IMPORTANTE	PROBLEMÁTICA	FAVORECIDA	NULLA
1	1	-----	-----	-----	1
2	3	-----	1	1	1
3	8	7	1	-----	-----
4	6	5	1	-----	-----
5	0	-----	-----	-----	-----
6	2	2	-----	-----	-----
TOTAL	20	14	3	1	2

CUADRO NO 52

COMPLICACIONES MORTALES		INFLUENCIA DE LAS DROGAS EMPLEADAS	CAUSA DE MUERTE
SERIE NO	CASO NO		
1	2	---	Fenomeno Inmunologico
2	9	Nula	Sepsis
3	17	Problematica	Sepsis
	19	Importante	Hemorragia , Pulmonar
	21	Importante	Hemorragia visceral multiple
	24	Problematica	Neumonia
4	27	Problematica	Sepsis
	28	Importante	Neumonia
6	42	Problematica	Incierta
	45	Importante	Hemorragia pleural

V.- OTRAS OBSERVACIONES.-

Se hizo un calculo de los tiempos medios de cicatrizacion completa de los lechos del homoinjerto en las distintas series. Para realizar este calculo se prescindió de los animales que fueron sometidos a biopsias cutáneas, cuya práctica pudo interferir el proceso de cicatrizacion de tales lechos, y tambien se prescindió de los animales que murieron antes de consumar la cicatrizacion completa.

En cada caso se consideraron tiempo de cicatrizacion completa al transcurrido entre la aplicacion del aloinjerto y la total epitelizacion de su lecho - una vez rechazado.

El tiempo medio de cicatrizacion completa mas bajo correspondió a la serie testigo y al retraso en la cicatrizacion en las demas series con respecto a la serie testigo queda reflejado en el cuadro nº 53.

De la observacion del dicho cuadro puede deducirse otro efecto colateral de las drogas utilizadas: retraso en la cicatrizacion de los lechos de los homoinjertos, que es máximo para la azatioprina y mínimo para la ciclofosfamida, ocupando unos lugares intermedios en orden decreciente, los corticoides, heparina y ametofterina.

Con respecto a la forma de cicatrizacion del lecho la reduccion concentrica fue la mas frecuentemente observada en los animales tratados con heparina. En el resto de las series fue mucho más frecuente la

CUADRO NO 53

TIEMPO MEDIO CICATRIZACION LECHO ALOINJERTO	
SERIE	RETRASO CON RESPECTO A LA SERIE TESTIGO (días)
2	1, 7 días
3	1, 2 días
4	3, 8 días
5	0, 7 días
6	0, 4 días

segunda modalidad: reduccion asimetrica con cicatriz lineal o en X tumbada.

En cuanto a la rapidez del rechazo ambas modalidades, rechazo rápido y rechazo lento, han sido observadas con frecuencia dependiendo probablemente la representacion de una u otra de la disparidad genética entre donante y receptor.

El aspecto del lecho del injerto, inmediatamente despues de consumarse el rechazo, y sus dimensiones estan ligados estrechamente al tiempo de supervivencia del

mismo: Los rechazados precozmente exhiben un lecho de dimensiones casi idénticas al inicial, con escasa tendencia a la cicatrización y con un fondo "húmedo". Por el contrario los lechos de los injertos rechazados más tardíamente, exhiben menores dimensiones, con tendencia a la epitelización en sus bordes, y fondo más seco. También depende de la modalidad del rechazo y en ocasiones, de las drogas empleadas para demorarlo.

La evolución general del aloinjerto fue similar en todos los casos: durante los primeros días presenta un aspecto macroscópico y microscópico similar al del autoinjerto. Pero a partir del tercero o cuarto día el injerto progresivamente se endurece, toma un aspecto apergaminado, no muestra tendencia a cicatrizar por los bordes y comienza levantarse, hasta desprenderse totalmente, dejando al descubierto un lecho más o menos epitelizado por debajo del injerto. El lecho por contracción concéntrica o asimétrica, ~~se~~ se reduce progresivamente de tamaño, hasta transformarse en una cicatriz puntiforme o lineal respectivamente.

En algunos casos, sobre todo pertenecientes a las series 4, 5 y 6, tras el rechazo del aloinjerto, el lecho, aparentemente cicatrizado, presentaba una descamación más o menos evidente (fotos nº 70, 99, 112 y 113) durante unos cuantos días seguidos, que hemos denominado "segundo rechazo", o "rechazo en dos tiempos" o "rechazo diferido". Probablemente este fenómeno puede explicarse por los denominados por PALACIOS Y GOMEZ (216), primero, tercero y cuarto mecanismos de reparación de la solución de continuidad cutánea (ver "Inmunidad de trasplante"): desprendida la epidermis del injerto, el dermis queda fijo al lecho del receptor y comienza una regeneración epitelial desde los bordes cutáneos del receptor progresando sobre el dermis del donante que queda incluido

en el lecho (cuarto mecanismo); o bien, desde el borde cutáneo del receptor se forma una lengüeta bifida epitelial que rodeando el dermis del donante desprende la epidermis (tercer mecanismo); o bien desde el borde cutáneo del receptor la proliferación epitelial diseca la epidermis y la desprende y progresa sobre el dermis del donante hasta cubrirle (- primer mecanismo, muy semejante al cuarto).

En cualquier de los tres casos el desprendimiento de la epidermis del injerto se considera como el rechazo clásico y el dermis del donante actuaría como un verdadero injerto homostático, que si temporalmente cubre la solución de continuidad cutánea sin embargo o no constituiría un buen lecho a la epidermis del receptor que sufre una fina descamación, hasta que el dermis del donante es sustituido completamente por el dermis propio. Este fenómeno es el que hemos denominado " segundo rechazo " "rechazo diferido" o " -- "rechazo en dos tiempos", que se prolonga durante unos cuantos días. una vez sustituido el dermis del donante por el dermis del receptor, la epidermis asentada sobre un tejido propio cesa en su descamación. Desde luego este fenómeno no lo hemos sorprendido nunca en el autoinjerto, ni en muchos de los homoinjertos que serían rechazados por el "segundo mecanismo" de reparación de la solución de continuidad cutánea (PALACIOS y GOMEZ) (216), en virtud del cual, al comenzar la que se insinúa por debajo del dermis del injerto y le desprende de su totalidad (dermis y epidermis). El injerto en estos casos, se comporta como un aposito biológico.

RESUMEN.-

En el presente trabajo se trata de dar una vision actual de la inmunologia, en general y de la Inmunidad de trasplante, en particular. La parte teorica ha sido agrupada en capitulos que analizan, de un modo generico, los aspectos mas interesantes de la Inmunologia general (concepto, inmunidad celular, e inmunidad humoral, tolerancia inmunologica, ontogenia y filogenia de los mecanismos inmunitarios) y de la Inmunidad de trasplante y los procedimientos de que se dispone para modificarla. Se acompaña de un estudio experimental en cobayas, a los que se les ha realizado un doble trasplante cutaneo (autoinjerto y aloinjerto) estudiando la influencia de diversas drogas sobre la evolucion de los mismos. Se exponen los métodos empleados y los resultados obtenidos. A continuacion se comentan y discuten tales resultados.

Del analisis e interpretacion de estos resultados se pueden obtener las siguientes conclusiones:

CONCLUSIONES.-

- 1.- El injerto de piel homologa en el cobaya va seguido de un fenomeno inmunológico denominado "reaccion de homoinjerto cutáneo" que conduce al "rechazo" del trasplante.
- 2.- La supervivencia del aloinjerto cutaneo puede ser aumentada cuando se utilizan inmunodepresores químicos exclusivamente, sin emplear otros procedimientos que modifiquen la inmunidad de trasplante.

- 3.- El aumento de supervivencia conseguido con el empleo de una droga inmunodepresora aislada, es escaso.
- 4.- Los mejores resultados para retrasar el rechazo de aloinjertos cutaneos en el cobaya, se obtienen en orden decreciente, con los siguientes inmunodepresores: 6-metil-prednisolona, amectopterina, ciclofosfamida y azatioprina.
- 5.- El aumento de supervivencia de alotrasplantes cutaneos pueden ser un procedimiento para valorar la efectividad de agentes inmunodepresores.
- 6.- La heparina utilizada a dosis standard de 2 mg/Kg de peso y dia administrada por via subcutanea no aumenta la supervivencia de los homoinjertos cutaneos en el cobaya.
- 7.- Del analisis de la supervivencia media de homoinjertos cutaneos en el conjunto de animales tratados con inmunodepresores, en relacion con diversos factores, considerados aisladamente, puede establecerse:
 - a.- Sexo del receptor no parece influir de un modo decisivo aunque la supervivencia media del aloinjerto es ligeramente superior en los animales machos que en los animales hembras.
 - b.- Igualdad o diferencia de sexo entre donante y receptor: la supervivencia del aloinjerto es mayor cuando ambos son del mismo sexo y sobre todo cuando ambos son machos.
 - c.- Color predominante del pelo del receptor: la supervivencia del aloinjerto es menor en los receptores de pelo blanco que en los de pelo mas oscuro (negro o canela).
 - d.- Color del aloinjerto: la supervivencia de los homoinjertos blancos es mayor que la de los aloinjertos ne-

gros o canela.

- e.- Igualdad o diferencia ~~entre~~ el color dominante del receptor y el color del aloinjerto: la supervivencia es mayor cuando existe similitud que cuando existe discrepancia de colores.
- 8.- Los autoinjertos en el cobaya, al revés de lo que sucede con los homoinjertos, son bien tolerados, siendo incorporados a su lecho. Sin embargo en determinadas circunstancias su evolución puede ser desfavorable y el injerto se necrosa y se desprende.
- 9.- El tratamiento con heparina, utilizada a dosis standard y sin controles hemáticos, con frecuencia conduce a un fracaso de los autoinjertos.
- 10.- Los inmunodepresores químicos no perturban ostensiblemente el aspecto morfológico de los autoinjertos. *(ver anexo)*
- 11.- En los animales tratados con inmunodepresores en los que fracasa el autoinjerto cutáneo, la evolución desfavorable del mismo está más en relación con las complicaciones generales que originan que con una acción a nivel del trasplante.
- 12.- La supervivencia media de los autoinjertos fracasados es mayor que la de los homoinjertos.
- 13.- El examen histopatológico o histológico de los injertos cutáneos es un buen procedimiento para seguir la evolución de los trasplantes.
- 14.- Las diferencias histopatológicas entre las reacciones de homoinjertos en cobayas no tratados y en

---animales sometidos a tratamiento con diversas drogas son mas bien de tipo cuantitativo que cualitativo, y tambien de tipo cronologico en cuanto a la aparicion de los hallazgos.

15.- En los autoinjertos pertenecientes a animales tratados con inmunodepresores se observa un retraso evolutivo en el desarrollo de los acontecimientos histologicos, en relacion con los autoinjertos pertenecientes a animales control.

16.- En algunas biopsias procedentes de animales tratados se observan colonias de gérmenes o extravasaciones hemáticas que bien puede deberse a efectos secundarios de las drogas o a manipulaciones operatorias o post-operatorias.

17.- Las biopsias sucesivas sobre un mismo injerto pueden modificar su biología y aumentar el riesgo de infeccion, pudiendo originar interpretaciones erroneas de los resultados.

18.- Las biopsias sobre injertos diferentes pueden conducir a hallazgos muy distintos como consecuencia de las diferencias biologicas individuales dificultando la interpretacion de los resultados.

19.- La investigacion anatomopatologica de otros organos pueden ayudar a la interpretacion de los resultados.

20.- El empleo de agentes inmunodepresores u otras drogas, cuya finalidad fundamental es la prolongacion de la supervivencia de los aloinjertos, puede producir efectos secundarios no deseados que conducen a la aparicion de complicaciones de importancia variable, pero a veces mortales.

21.0 Entre las complicaciones encontradas, las originadas por el empleo de drogas pueden clasificarse en dos grupos:

a.- Dependientes del empleo de heparina: manifestaciones hemorrágicas de mayor a menor cuantía, muy frecuentes, que son causa de muerte en el 25% de los animales tratados con este fármaco y tienen una importancia problemática en la muerte de otro 25 % de los animales igualmente tratados.

b.- Dependientes del empleo de inmunodepresores químicos:

I.- Dependientes de las 6-metil-prednisolona: puede desempeñar un papel importante en el mantenimiento de infecciones y en la virulencia de las mismas y su influencia en otro tipo de complicaciones es muy problemática.

II.- Dependiente de la azatioprina: esta droga puede originar complicaciones variadas:

i.- Manifestaciones hemorrágicas.

ii.- Manifestaciones digestivas, sobre todo diarrea.

iii.- Predisposición a infecciones o agravación de las mismas.

iiii.- Efecto abortígeno muy frecuente sobre las hembras gravidas.

III.- Dependientes de la amectopterina: a la dosis empleada es muy bien tolerada y no origina complicación alguna.

IV.- Dependientes de la ciclofosfamida: Puede dar lugar a manifestaciones digestivas y hemorrágicas variadas.

- 22.- En orden a la aparicion de efectos secundarios derivados del empleo de inmunodepresores, la incidencia es maxima con el empleo de azatioprina y en sentido decreciente con la ciclofosfamida y corticoides siendo nula con la amectopterina .
- 23.- En orden a la gravedad de las complicaciones, la influencia de la ciclofosfamida es mas perniciosa que la de la azatioprina, pues cuando aparecen complicaciones imputables a la ciclofosfamida - la incidencia de mortalidad es mayor que cuando surgen complicaciones imputables a la azatioprina. Los corticoides en nuestras series no originan complicaciones mortales.
- 24.- No todas las complicaciones tienen su origen en el empleo de drogas, sino que tambien influyen otros factores: asepsia poco rigurosa errores en la técnica quirurgica, etc., aun cuando - estas complicaciones pueden agravarse con el -- empleo de farmacos.
- 25.- En un animal no tratado con drogas las complicaciones observadas pueden ser etiquetadas, con reservas como de naturaleza puramente inmunológica y quizá debida a una reaccion injerto-contra-huesped.
- 26.- La causa de muerte mas frecuente en los animales tratados con drogas son las complicaciones infecciosas y las complicaciones hemorragicas, en los animales tratados con inmunodepresores y estas -- en los animales tratados con heparina.
- 27.- Las drogas empleadas interfieren el normal proceso de cicatrizacion de los lechos de los homoinjertos retrasando su curacion. Este efecto es máximo para la azatioprina y minimo para la ciclofosfamida, ocupando lugares intermedios, en sentido decreciente, los corticoides heparina y amectopterina.

28.- La cicatrizacion de los lecho de los aloinjertos rechazados se produce segun dos modalidades: reduccion concentrica y reduccion asimetrica, originando una cicatriz puntiforme o lineal, respectivamente.

29.- Se observan dos modalidades de rechazo del aloinjerto: un rechazo acelerado o rápido y un rechazo lento, dependiendo probablemente de la disparidad genetica entre donante y receptor.

30.- Tras el rechazo lento de un aloinjerto, en algunas ocasiones se observa lo que hemos denominado "segundo rechazo", "rechazo en dos tiempos" o "rechazo diferido".

31.- El aspecto^y dimensiones del lecho del aloinjerto cutaneo inmediatamente despues de concluir el rechazo dependen del tiempo de supervivencia del mismo, de la modalidad de rechazo y, en ocasiones, de las drogas empleadas para demorarles.

32.- La cicatrizacion de los lechos del autoinjerto y del homoinjerto en los casos en que aquel se necrosa y desprende se realiza en periodos de tiempo similares o ligeramente menores para el lecho del autoinjerto.

33.- La cicatrizacion de los lechos de autoinjertos desprendidos, tiene lugar, generalmente, segun la modalidad descrita como "reduccion concentrica".

████████████████████

BIBLIOGRAFIA

- 1.- AINSLIE E.- Trasplante de córnea. Brit.J.of Hosp. Med. (Ed.español), 3, 43, 1970.
- 2.- ALBORES J.M., CEDRATO A.E., TACCHELLA M.A., KOFMAN I.- Inmunidad en la Infancia. Gaceta Sanitaria, 5-6, 9, 1966.
- 3.- ALEXANDER P.- Factores inmunológicos del crecimiento y de la difusión de los tumores. - Tribuna Médica. Revision, 8, 9 1971.
- 4.- ARTAZA ANDRADE M.- Adminstracion de la heparina por via subcutánea. En: Lecciones prácticas sobre heparina, pg. 87. Ed. Laboratorios Farmaceuticos Rovi. Madrid, 1969.
- 5.- ASTALDI G., BURGIO G.R. KRIC J., LEREVA R., ASTALDI A.A., Jr.- L-Asparaginase and blastogenesis. Lancet, 1, 423, 1969.
- 6.- BACH J.F. HIRSCHHRON K.- Lymphocyte interaction: A potential in vitro histocompatibility test. Science, 143, 815, 1964.
- 7.- BACH J.F., DARDENNE M., FOURNIER C.- In vitro evaluation of immunosuppressive drugs. Nature, 222, 698, 1969.
- 8.- BACH J.F.- Acquisitions Recentes sur Immunosuppre-seurs. En: Cours International de - transplantation, Lyon, 1970, pg. 27 - SIMEP editions. 69-Villeurbanne. France 1971.
- 9.- BAIN B., LOWENSTEIN L.- Genetic studies on the mixed leukocyte reaction. Science, 145, 1315, 1964.

- 10.- BAIN B., VAS M.R., LOWENSTEIN L.. The development of large immature mononuclear cells in mixed leukocyte cultures. Blood 23, 108, 1964.
- 11.- BARGMANN W..- Histología y Anatomía Microscópica Humana. Labor S.A. Barcelona, 1968.
- 12.- BARNARD C. N..- A human cardiac transplant: An interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Capetown. South African Med. J., 41, 1271, 1967.
- 13.- BARNARD C.N.- Clinical Heart Transplantation. En: Organ Transplantation Today, pg. 270 Ed. Mitchison N.A., Greep J.M. y Hattinga Verschure J.C.M.. Excerpta Medica Foundation. Amsterdam, 1969.
- 14.- BARNES B.A., BROWNELL G.L., FLAX M.H.- Irradiation of the blood. Method for reducing lymphocytes in blood and spleen. Science, 145, 1188, 1964.
- 15.- BASILIADE G..- Experiencias rumanas en el rechazo de órganos trasplantados. Tribuna Médica, 19,6,1970, pg. 13.
- 16.- BATCHELOR J.R..- The use of enhancement in studying tumor antigens. Cancer Res., 28, 1410, 1968.
- 17.- BATCHELOR J.R..- Tipificación de tejidos. Brit.J. of Hosp. Med. (Ed. español), 3, 11, 1970.
- 18.- BATCHELOR J.R., ELLIS F., FRENCH M.E., BEWICK M., CAMERON J.S., OGG C.S.- Immunological enhancement of human kidney graft. Lancet, 2, 1007, 1970.
- 19.- BERENBAUM M.C..- Immunosuppressive agents. Brit. Med. Bull., 21, 40, 1965.
- 20.- BERENBAUM M.C..- Immunosuppressive agents and allogeneic transplantation. J. Clin. Path., 20, 471, 1967.

- 21.- BERKE G..- Destruction de cellules cibles par lymphocytes normaux ou sensibilisés. Cours de Perfectionnement sur les -- Transplantation d'Organes. Lyon, Mayo 1970. Comunicacion personal.
- 22.- BETUEL H..- Selection des donneurs et des receveurs: les groupes tissulaires. Cah. Med. Lyon., 46, 649, 1970.
- 23.- BETUEL H..- L'histocompatibilité et le systeme H.L.A.. En: Cours International de Transplantation, Lyon 1970, pg. 85. SIMEP editions. 69-Villeurbanne. France, 1971.
- 24.- BILLINGHAN R.E., KROHN P.L., MEDAWAR P.B.- Effect of cortisone on survival of skin -- homografts in rabbits. Brit. Med. J., 1, 1157, 1951.
- 25.- BILLINGHAN R.E., BRENT L., MEDAWAR P.B.- "Actively acquired tolerance" of foreign cells Nature, 172, 603, 1953.
- 26.- BILLINGHAN R.E.- The origins and objectives of Transplantation. En: The Biology and Surgery of Tissue Transplantation, pg. 1. Ed. Anderson J.M.. F.A. Davis Co. Philadelphia, 1970.
- 27.- BINET.- Citado por HOLLARD (123).
- 28.- BIOZZI y ZAALBERG.- Citados por REVILLARD (235).
- 29.- BRADLEY K.P., McELROY J.T., CAMPBELL F., DE QUE-SADA A.M., SHIRES D.L., BIEGEL A.A., DONOHUE J.P., GLOVER J.L.- Accelerated renal allograft rejection following blood transfusion. Surg., 69, 805 1971.
- 30.- BRENT L., GOWLAN G.- Induction of tolerance of skin homografts in immunologically competent mice. Nature, 196, 1298, 1962.

- 31.- BRENT L., MEDAWAR P.B.- Tissue Transplantation
A new approach to the "typing" problem. Brit. Med. J., 2, 269, 1963.
- 32.- BROOKS J.R., GIFFORD G.H.- Pancreatic homotransplantation. Transplant. Bull., 6, 100, 1959.
- 33.- BRUNE K.- Reacciones Graft-versus-Host: modelos, influenciabilidad y analogías clínicas. Schw. Med. Woch. (Ed. español), 9, 232, 1970.
- 34.- BRUNNER K.T., MAUEL J., CEROTTINI J.C., CHAPUIS B.- Quantitative assay of the lytic action of immune lymphoid cells on ⁵¹-Cr-labelled allogenic target cells in vitro; inhibition by isoantibody and by drugs. Immunology, 14, 181, 1968.
- 35.- BURCK H.C.- Técnica Histológica. Ed. Paz Montalvo. Madrid, 1969.
- 36.- BURGOS-CALDERON R., PANKEY G.A., FIGUEROA J.E.- Infection in kidney transplantation. Surg., 70, 334, 1971.
- 37.- CALNE R.Y., ALEXANDRE G.P.J., MURRAY J.E.- A study of the effects of drugs in prolonging survival of homologous renal transplants in dogs. Ann N.Y. Acad. Sci., 99, 743, 1962.
- 38.- CALNE R.Y., EHTE H.J.O., YOFFA J.E., MAGINN R.R., BINNS R.M., SAMUEL J., MOLINA V.P.- Observations of orthotopic liver transplantation in the pig. Brit. Med. J., 5550, 478, 1967.
- 39.- CALNE R.Y.- Immunosuppressive drug therapy. En: Organ Transplantation Today, pg. 82. Ed. Mitthison N.A., Greep J.M. y Hattinga Verschure J.C.M.. Excerpta Medica Foundation. Amsterdam, 1969.

- 40.- CALNE R.Y..- Trasplante de hígado. The Practitioner (Ed. español) 62, 34, 1970.
- 41.- CARREL.- Citado por NUBOER (212).
- 42.- CASARES J..- Diccionario Ideológico de la Lengua Castellana. Ed. Gustavo Gili S.A. 2ª ed. Barcelona, 1966.
- 43.- CASEY T.A..- Injerto corneal. The Practitioner (Ed. español, 62, 50, 1970.
- 44.- CEPELLINI R., CELADA F., MARTINEZ P.L., ZANALDA A..- Study of the possible correlation between blood antigens and histocompatibility in man. I. Production of leukoagglutinins by repeated transfusions from one donor. Ann. N.Y. Acad. Sci., 120, 335. 1964.
- 45.- CAPELLINI R..- Genetics of Transplantation. En: Organ Transplantation Today, pg.26. Ed. Mitchison N.A., Greep J.M., Hattiniga Verschure J.C.M.. Excerpta Medica Foundation. Amsterdam, 1969.
- 46.- CEROTTINI J.C..- Estructura y actividad biológica de los anticuerpos. Schw. Med.Woch. (Ed. español), 37, 1051, 1971.
- 47.- CLUNIE G.J.A., MURPHY K.J., LUKIN L., NICOLL P., MARSDEN R.T.H..- Autotransplantation of the kidney in the treatment of renovascular hypertension. Surg., 69 326, 1971.
- 48.- COCHRUM K.C., MAIN R.K., KOUNTZ S.L..- A new matching technique; The mixed skin cell-leukocyte reaction (MSLR). Surg. 70, 97, 1971.
- 49.- COHEN S., PORTER R.R..- Structure and biological activity of Immunoglobulins. Adv. Immunol., 4, 287, 1964.

- 50.- COHEN S., MILSTEIN C..- Structure of antibody molecules. Nature, 214, 597, 1967.
- 51.- CONWAY N., SOMERVILLE W..- Trasplante cardiaco. Brit J. of Hosp. Med (Ed. español) 3, 49, 1970.
- 52.- COOLEY D.A., HALLMAN G.L., LEAGHMAN R.D., NORA, J.J., ROCHELLE D.G., MESSMER B.J..- Resultados prácticos en el trasplante cardiaco. Rev.Inf. Med.Ter.,10, 459, 1970.
- 53.- COOMBS R.R.A..- Inmunopatología. Extracta (Ed. español, 117, 1, 1968.
- 54.- COOMBS R.R.A..- Los tipos fundamentales de la reactividad alérgica que provoca - afecciones. Triángulo, 2, 43, 1970.
- 55.- CORDIER G., GARNIER H., CLOT J.P.,.- La greffe foie orthotopique chez le porc: premiers resultats.Mem.Acad.Chir, 92, 799, 1966.
- 56.- CROB P.J., JEMELKA H..- La determinacion de la beta 1 A en la clínica. Schw. Med. Woch. (Ed. español), 37, 1059, 1971
- 57.- CRONKITEE.P., CHANANA A.D., SCHNAPPAUF H..- Extracorporeal irradiation of blood and lymph in animals. New Engl. J. Med., 272, 455, 1965.
- 58.-CUADRADO E., RAÑADA J.F., PERIANES J..- Estructura y funcion de las inmunoglobulinas. Bol.Fund. Jimenez Diaz, 8,449. 1970.
- 59.- CHANG.- Ciatado por VIVES MANE (291).
- 60.- DA COSTA O., CHAVES P.R..- Tratado Elemental de Histología y Anatomía Microscopica. Ed. Científico-Médica. Barcelona 1953

- 61.- D'ALLAINES C.- Historie de la Chirurgie. 2^a Ed.
Presses Universitaires de France.
Paris, 1967.
- 62.- DARDICK H., DARDICK I., SMITH R.B., MITSUDO S.,
SHERMAN A., GLIEDMAN M.L.- Intras-
plenic thyroid implantation with
reverse splenocaval shunting: A
morphologic and functional evaluation
Surg., 70, 561, 1971.
- 63.- DAUSSET J.- Considerations sur la Genetique
du Systeme HL-A et ses Implications
en Transplantation. En: Cours In-
ternational de Transplantation, Lyon
1970, pg. 75. SIMEP editions. 69-
Villeurbanne. France 1971.
- 64.- DAUSSET J.- Leyes de la selección de donantes
de Órganos para trasplante. Tribuna
Médica-Revision 6, 20, 1971.
- 65.- DAVIES A.J.S., LEUCHARS E., WALLIS V., MARCHANT
R., ELLIOTT E.V.- The failure of
thymus-derived cells to produce anti-
body. Transplantation, 5, 222, 1967
- 66.- DE GRAEFF J.- Kidney Transplantation. En: Organ
Transplantation Today, pg. 275. Ed.
Mithison N.A., Greep J.M. y Hattinga
Verschure J.C.M.. Excerpta Médica
Foundation. Amsterdam, 1969.
- 67.- DEMIKHOV.- Citado por CONWAY y SOMERVILLE (51).
- 68.- DEMIKHOV.- Citado por WHITE (294).
- 69.- DEMPSTER W.J., LENNOX B., BOAG J.W.- Prolongation
of survival of skin homotransplants in
Rabbits by Irradiation of Hosp. Brit.
J. Exp. Path., 31, 670, 1950.
- 70.- DEROM.- Citado por LOGAN (157).

- 71.- DESCOTES J..- Role de la chirurgie experimentale dans les transplantations d'organes. Cah.Med.Lyon., 46, 1091, 1970.
- 72.- DESCOTES J..- La conservation des organes en vue de la transplantation. Cah. Med.Lyon 46, 1095, 1970.
- 73.- D'ESPEZEL P., FOSCA F..- Historia de la Pintura. Ed. Daimon. Barcelona. 1962.
- 74.- DEUSCH H.F., FUNDENBERG H..- Immunoglobulina structure and function. Adv. Int. Med., 377, 395, 1969.
- 75.- DIXON F.J..- Immunopatogénesis de la glomerulonefritis. Tribuna Médica-Revision, 5, 24, 1971.
- 76.- DURMONT J..- La chimotherapie immunodepressive. Cah, Med. Lyon., 46, 671, 1970.
- 77.- DUBERNARD J.M..- Role des Anticorps Humoraux en Transplantation Renale; Donnees -- Experimentales. En: Cours International de Transplantation, Lyon, 1970, pg. 39. SIMEP editions. 69-Villeurbanne. France, 1971.
- 78.- ELVES.M.W..- Los linfocitos.Toray S.A. Barcelona 1969.
- 79.- ELVES M.W..- El linfocito y la respuesta inmunológica. Tribuna Médica-Revision, 5, 3, 1971.
- 80.- ESCULIES J., MIQUELA.A..- El uso de la sustancia "E" intratumoral. Autoinmunidad en portadores de tumores malignos. Gaceta Sanitaria, 3, 93, 1967.
- 81.- FAHRAEUS R..- Historia de la Medicina. Editorial Gustavo Gili S.A. Barcelona 1956.

- 82.- FALK R.E., HANCOCK D.J., LANGER B.- Prolongation of allograft survival by specific -- antibody-to-lymphocyte-activating subcutaneous. Surg., 70, 122, 1971.
- 83.- EASQUELLE R., BARBIER P., DAGUET G., GOULLET P.- Elementos de Immunología General. Toray-Masson S.A. Barcelona, 1968.
- 84.- FINK U.- Terapeutica Inmunosupresora. Med. Klin. (Ed. español), 104, 40, 1970.
- 85.- FISHMAN y ADLER.- Citados por MILLER (190).
- 86.- FOLEY.- Citado por BILLINGHAN (26).
- 87.- FOLKERT O., BELZER M.D.- Organ Preservation. Experimental aspects. En: Cours International de Transplantation, Lyon 1970 pg. 231. SIMEP editions. 69-Villeurbanne. France 1971.
- 88.- FRENCH M.E., BATCHELOR J.R.- Immunological enhancement of rat kidney grafts. Lancet, 2, 1103, 1969.
- 89.- FREY-WETTSTEIN M., GRADDOCK C.G.- Una contribución a la diferenciación funcional de los linfocitos. Schw. Med. Woch., 23, 607, 1970.
- 90.- FRIES D.- Morphologie de la reaction de rejet. Cah. Med. Lyon., 46, 483, 1970.
- 91.- FRIES D.- Serum antilymphocyte: Données experimentales et mecanismes d'action. Cah. Med. Lyon., 46, 1053, 1970.
- 92.- FRIES D.- Transplantation, Renale Humaine. Acquisitions Recentes. En: Cours International de Transplantation, Lyon 1970, pg. 131. SIMEP editions. 69-Villeurbanne. France, 1971.

- 93.-GALLILY R., FELDMAN M..- The role of macrophages in the induction of antibody in X-irradiated animals. Immunology, 12, 197, 1967.
- 94.- GARCIA-SANCHO L..- Tratamiento médico de la flebitis y embolia de pulmón. En: Symposium sobre Tromboflebitis y Embolia de -- Pulmón , Mayo-Junio, 1969, I Cátedra Patología Quirúrgica (Prof. Duran). Facultad de Medicina de Madrid. Ed. -- Lab. Made, pag. 135. Madrid, 1970.
- 95.- GEWURZ H., WERNICK P.R., Quie P.G., GOOD R.A..- Effects of hydrocortisone succinate on the complement system. Nature, 208, 755, 1965.
- 96.- GIBSON T., MEDAWAR P.B..- The fate of skin homografts in man. J. Anat., 77, 299, 1943.
- 97.- GOLDSMITH K.L.G..- Donor selection and compatibility typing. Brit. Med. Bull., 21, 162, 1965.
- 98.- GONZALEZ SANTANDER R..- Importancia actual de la biología del linfocito. Arch. F. Med. Madrid, 18, 321, 1970.
- 99.- GOOD R.A., PAPERMASTER B.W..- Ontogeny and Phylogeny of Adoptive Immunity. Adv. -- Immunol., 4, 1, 1964.
- 100.- GORER.- Citado por BILLINGHAN (26).
- 101.- GOTZ H., GOLLER D..- Procesos inmunológicos en los organismos portadores de tumores. MUnch. Med. Woch., 11, 923, 1971.
- 102.- GOWANS J.L., Mc GREGOR D.D., GOWEN D.M., FORD C.E..- Initiation of immune responses by small lymphocytes. Nature. 196, 651, 1962.
- 103.- GOWANS J.L., KNIGHT E.J..- The Route of Re-circulation of Lymphocytes in the Rat. Proc. Roy. Soc. B., 159, 257, 1964.

- 104.- GOWLAND, E..- Induction of transplantation tolerance in adult mice. Brit.Med. Bull., 21, 123, 1965.
- 105.- GRANGER.- Citado por FRIMES (90).
- 106.- GRAS J..- Sinopsis Immunológica. Tribuna Médica-Revision, 8, 26, 1971.
- 107.- GREEN N.M..- Electron microscopy of the immunoglobulins. Adv. Immunol., 11, 1, 1969.
- 108.- GRENIER J.F..- Greffe de l'intestin. Cours de Perfectionnement sur les Transplantation d'Organes. Lyon, Mayo, 1970. Comunicación personal.
- 109.- GROTH.- En: Organ Transplantation Today, pg. 288. Ed. Mitchison N.A., Greep J.M. y Hattinga Verschure J.C.M. Excerpta Médica Foundation. Amsterdam 1969.
- 110.- GRUNDEL J..- Ethics of Organ Transplantation. En: Organ Transplantation Today, pg. 333 Ed. Mitchison N.A., Greep J.M. y Hattinga Verschure J.C.M.. Excerpta Médica Foundation. Amsterdam. 1969.
- 111.- GUIRAND F..- Mitología General. Labor S.A. Barcelona 1965.
- 112.- GUTHRIE.- Citado por HARDY (119).
- 113.- HADDOW A..- Immunology of the Cancer Cell: Tumour-specific Antigens. Brit. Med. Bull., 21, 133, 1965.
- 114.- HALPERN B..- Inmunidad y sistema retículo-endotelial. Triangulo, 5, 174, 1964.
- 115.- HALPERN B..- En: Les transplantation d'organes, pg.23. Foundation Merieux. Lyon. 1969.

- 116.- HAMBURGER J., VAYSSE J., CROSNIER J., TUBIANA M., LALANNE C.M., ANTOINE B., AUVERT J., SOULIER J.P., DORMONT J., SALMON C., MAISONNET M., AMIEL J.M.- Transplantation d'un rein entre jumeaux non monozygotes apres irradiation du receveur. Bon fonctionnement au 4^{ème} mois. Press Med. 67, 1771, 1959.
- 117.- HAMBURGER J.- Renal Transplantation. En: Organ Transplantation Today, pg. 276. Ed. Mitchison N.A., Greep J.M. y Hattin-ga Verschure J.C.M. Excerpta Médica Foundation. Amsterdam, 1969.
- 118.- HARDY J.D., WEBB W.R., DALTON M.L., WALKER G.R.- Lung homotransplantation in man; re- porte of initial case. J. Amer. Med. Ass., 186, 1065, 1963.
- 119.- HARDY J.D.- Lung Transplantation. En: Organ Trans- plantation Today, pg. 214. Ed. Mitchi- son N.A., Greep J.M. y Hattin-ga Vers- chure J.C.M.. Excerpta Médica Founda- tion. Amsterdam 1969.
- 120.- HARDY M.A., QUINT J., COHEN W.B., STATE D.- C¹⁴ D-glucose absoption in heterotopic jejunal allografts. Gastroenterol., 54, 1295. 1968.
- 121.- HEBERMAN R., STETSON C.H.- The Expression of His- tocompatibility Antigens on Cellular and Subcellular Membranes. J. Exp. Med. 121, 533, 1965.
- 122.- HEDON.- Citado por LILLEHRI (154).
- 123.- HOLLARD.D.- Irradiation extra-corporelle et inmu- nosupresseion. Cah. Med. Lyon., 46, 693 1970.
- 124.- HOUSSAY.- Citado por LILLEHEI (154).

- 125.- HUBER H., DOUGLAS S.D., FUDENBERG H.H.-The Ig G receptor: an immunological marker for the characterization of mononuclear cells. Immunology, 17,7, 1969.
- 126.- HUGHES-JONES N.C.- Shooock por reacciones antígeno-anticuerpo. Brit. J. of Hosp. Med. --- (ed. español), 1, 24, 1970.
- 127.- HUMED.M., MERRILL J.P., MILLER B.F.- Homologous transplantation of human kidneys. J. Clin. Invest., 31, 640, 1952.
- 128.- HUME D.M.,- Prospects of Kidney Transplantation. En: Organ Transplantation Today, pg. 311 Ed. Mitchison N.A., Greep J.M. y Hattin-ga Verschure J.C.M. Excerpta Médica -- Foundation. Amsterdam 1969.
- 129.- HUMPRHREY J.H., DOURMASHKIN R.R.- The lesions in cell membranes caused by complement Adv. Immunol., 11, 75, 1969.
- 130.- IDEZUKI Y., FEEMSTER J.A., DIETZMAN R.H., LILLEHEI R.C.- Experimental pancreaticoduodenal preservation and trnasplantacion. Surg. Gynec.Obstet., 126, 1002, 1968.
- 131.- IDEZUZI Y., LILLEHEI R.C., FEEMSTER J.A., DIETZMAN R.H.- Pancreaticoduodenal allotransplan-tation in dogs. Vasc. Dis., 5, 78, 1968.
- 132.- INDERBITZIN T.- The relation of lymphocytes, delayed cutaneous allergic reactions and histamine Int.Arch.Allergy, 8, 150, 1956.
- 133.- INMUNOGLOBULINAS.- Notas terapeuticas, 1, 10, 1968.
- 134.- JACOB y MONOD.- Citados por FASQUELLE (83).
- 135.- JAMES K., ANDERSON N.F.- Effect of anti-rat lymphocyte antibody on humoral antábody formation. Nature, 213, 1195, 1967.

- 136.- JANSSEN C.R., CRONKITE E.P., RAY R., MATHER G.C.,
NIELSON N.O., ADAMIR E.R., SIPE C.P.-
Studies on lymphocytes. II. The pro-
duction of leukocytosis by intravenous
heparin in calves, Blood, 20, 443, 1962.
- 137.- JEANNET M., PINN V.W., FLAX M.H. et al.- Humoral
antibodies in renal allotransplantation
in man. New Eng. J. Med., 282, 111, 1970.
- 138.- JOSEPH W.L., MELEWICZ F., MORTON D.L.- Delayed
cutaneous hypersensitivity to dinitro-
chlorobenzene as a method of quantitating
immunosuppressive therapy for organ ---
transplantation. Surg., 69, 847, 1971.
- 139.- KABAT E.A.- The nature of an antigenic determinant.
J. Immunol., 97, 1, 1966.
- 140.- KELLY W.D., LILLEHEI R.C., MERKEL F.K., IDEZUKIY.,
GOETZ F.C.- Allotransplantation of
the pancreas and duodenum along with
the kidney in diabetic nephropathy.
Surg., 61, 827, 1967.
- 141.- KLAUE P., JOLLEY W.B.- The comparative effecti-
veness of corticosteroid applied topi-
cally as pretreatment of rabbit skin ---
allografts. Surg., 70, 718, 1971.
- 142.- KOLLE G.- Alteraciones de la médula ósea en la ---
terapéutica inmunosupresiva de la ar-
tritis reumatoidea y del síndrome de
Still con Azatioprina. Nova. Reumatol.
3, 122, 1970.
- 143.- LANCE E.M., MEDAWAR P.B.- Survival of skin hetero-
grafts under treatment with antilym-
phocytic serum. Lancet, 1, 1174, 1968.
- 144.- LARGIADER F., LYONS G.W., HIBALGO., DIETZMAN R.H.
LILLEHEI R.C.- Orthotopic allotrans-
plantation of the pancreas. Amer. J.
Surg., 113, 70, 1967.
- 145.- Lee S., EDGINTON T.S.- Liver transplants in the
rat. Surg. Forum, 17, 220, 1966.

- 146.- LEJEUNE G.- Les antigenes de transplantation. Cah. Med. Lyon., 46, 471, 1970.
- 147.- LEMPERLE.- Citado por PICHLMAYR (222).
- 148.- LENO VALENCIA.- Riñon e Inmunidad. Noticias Méd. 29, 2, 1972, pg. 14.
- 149.- LESKI.- Citado por TOURAINE (277).
- 150.- LEXER.- Citado por PEREZ TAMAYO (219) y PALACIOS y GOMEZ (216).
- 151.- LILLEHEI R.C., GOOT B., MILLER F.A.- Homografts of the small bower. Surg. Forum, 10, 197, 1959.
- 152.- LILLEHEI R.C., GOLDBERG S., GOOT B., LONGERBEAM J.K.-Present status of intestinal transplantation. Amer.J. Surg., 105, 58, 1963.
- 153.- LILLEHEI R.C.- Preservation of Organs.En: Organ Transplantation Today pg. 109.Ed. Mitchison N.A., Greep J.M., y Hattinga Verschure J.C.M.. Excerpta Médica Foundation. Amsterdam 1969.
- 154.- LILLEHEI R.C., IDEZUKI Y.- Current status of Pancreatic Transplantation. En: Organ Transplantation Today, pg. 175. Ed. Mitchison N.A., GreepJ.M. y Hattinga Verschure J.C.M. Excerpta Médica Foundation. Amsterdam 1969.
- 155.- LILLEHEI R.C., IDEZUKI Y., UCHIDA H., GOETZ F.C., NAJARIN I.J.S., SIMMONS R.C.- Resultados clínicos de los trasplantes de páncreas Rev. Inform. Med.Terap., 10,469,1970.
- 156.- LITTLE.- Citado por BILLINHAN (26).
- 157.- LOGAN A.- Trasplante de pulmon. The Practitioner (Ed. español), 62,41, 1970.

- 158.- LORENZO VELÁZQUEZ B.- Terapeutica con sus fundamentos de Farmacología Experimental. 8ª edición. Ed. Científico-Médica. Barcelona 1958.
- 159.- ~~LORENT~~ JACOB J.L., MAILLARD J.N., GINLI T., BENHAMOLL J.P., LEANDRI J.- Tentatives experimentales d'autotransplantation de lobes de foie en position heterotopique Rev.Int.Hepat., 15, 1491, 1965.
- 160.- LOWER R.R., SHUNWAY N.E.- Studies on orthotopic homotransplantation of the canine heart. Surg.Forum, 11, 18, 1960.
- 161.- LOWER R.R., STOFER R.C., SHUNWAY N.E.- Homovital transplantation of the heart. J.Thorac. Cardiovasc.Surg., 41, 196, 1961.
- 162.- MALAVE, I.- Las inmunoglobulinas humanas.- Amer Clin., 2, 104, 1970.
- 163.- MANN, PRISTLEY, MARKOWITZ y YATER:- Citados por CONWAY y SOMERVILLE (51).
- 164.- MARKLEY K., THORNTON S., SMALLMAN E., MARKLEY P.- Prolongation of skin survival and induction of resistance to infection by phytohemagglutinin. Transplantation, 8, 258, 1969.
- 165.- MARKLEY K., THORNTON S.W., SMALLMAN E.- The effect of traumatic and nontraumatic shock on allograft survival. Surg., 70, 667, 1971.
- 166.- MATHE G., JAMMET H., PENDIC B., SCHWARZENBERG L. et al.- Transfusions et greffes de moelle osseuse homologue chez des humaines irradiées a haute dose accidentellement. Rev.Franç. Etud.Clin. Biol., 4, 226. 1959.
- 167.- MATHE G., AMIEL J.L., NIEMETZ J.- Recherche d'un test d'histocompatibilité pour des essais de greffes allogéniques. I. Etude chez la souris. Rev. Franç.Etud. Clin.Biol., 6, 684, 1961.

- 168.- MATHE G., SCHWARZENBERG L., AMIEL J.L. et al.-
Bone Marrow Transplantation. En: Organ
Transplantation Today, pg. 118. Ed.
Mitchison N.A., Greep J.M. y Hattinga
Verschure J.C.M. Excerpta Médica Foun-
dation, Amsterdam, 1969.
- 169.- MATHE G.- Injertos de médula ósea y transfusiones
de glóbulos blancos en los leucémicos
Tribuna Médica-Revision, 7,3, 1971.
- 170.- MATSUKURA M., MERY A.M., AMIEL J.L., MATHE G.-
Investigation on a test of histocom-
patibility for allogenic grafts. II.
Study on rabbits. Transplantation,
1, 61, 1963.
- 171.- MAURISASCO.- Citado por TOURAINE (277).
- 172.- McDONALD J.C., RITCHEY R.J., FUSELIER P.F., LINDSEY
E.S., McCRACKEN B.H.- Sepsis in human
renal transplantation. Surg., 69, 189,
1971.
- 173.- Mac GREGOR D.D., GOWANS J.L.- Survival of homo-
grafts of skin in rats depleted of
lymphocytes by chronic drainage from
the thoracic duct. Lancet, 1, 629,
1964.
- 174.- Mc KNEALLY M.F., GOOD R.A.- The central lymphoid
tissues of rabbits. I. Function studies
in newborn animals, Surg., 69,
166. 1971.
- 175.- Mc KNEALLY M.F., SUTHERLAND D.E.R., GOOD R.A.-
The central lymphoid tissues of rabbits.
II functional and morphologic studies
in adults animals. Surg., 69, 345. 1971.
- 176.- MEDAWAR P.B.- The behavior and fate of skin auto-
grafts and skin homografts in rabbits.
J. Anat., 78, 176, 1944.

- 177.- MEDAWAR P.B..- Immunity to homologous grafted skin.
II. The relationship between the antigens of blood and skin. Brit. J. Exp. Path. 27, 15, 1946.
- 178.- MERINO G.E., HARRIS N., SIMMONS R.L., NAJARIN J. S..- Local graft-versus-host reaction in rats as a clinical assay of immunosuppression. Surg., 69, 904, 1971.
- 179.- MERRILL J.P., MURRAY J.E., HARRISON., GUILD W.R..- Successful homotransplantation of the human kidney between identical twins. J. Amer. Med. Ass., 160, 277, 1956.
- 180.- MERRILL J.P., MURRAY J.E., HARRISON et al..- Successful homotransplantation of the kidney between non-identical twins. New Engl. J. Med., 262, 1251, 1960.
- 181.- MERY A.M., BREXIN C., SEKIGUCHI M. et al..- Investigation on a test of histocompatibility for allogenic grafts. III. A study in man. Transplantation, 4, 206, 1966.
- 182.- MESHALKIN.- Citado por HARDY (119).
- 183.- MIKAELOFF P., DUREAU., RASSAR J.P., DUBERNARD L.M., et al..- Notre experience de la transplantation orthotopique et heterotopique de foie chez le chien. Rev. Mal. Foie, 41, 51, 1966.
- 184.- MIKAELOFF P., LEVRAT R., NESMOZ E., RASSAR J.P. et al..- Transplantation hepatique chez le rat. Presse Med., 76, 1521 1968.
- 185.- MIKAELOFF P., DUBERNARD J.M., BOMEL J..- Transplantation de foie et de rein chez le rat. Cah. Med. Lyon., 46, 1099, 1970.
- 186.- MILLER J.F.A.P..- Immunological function of the thymus. Lancet, 2, 748, 1961.
- 187.- MILLER J.F.A.P..- Role of the thymus in immunity. Brit. Med. J., 2, 459, 1963.

- 188.- MILLER J.F.A.P.- Immunity and the thymus. Lancet, 1, 43, 1964.
- 189.- MILLER J.F.A.P.- Effect of thymectomy in adult mice on immunological responsiveness Nature, 208, 1337, 1965.
- 190.- MILLER J.F.A.P.- Factores biológicos de la respuesta inmunológica, Tribuna Médica-Revision, 7, 9, 1971.
- 191.- MITCHISON N.A.- Immunological paralysis induced by brief exposure of cells to protein antigens. Immunology, 15, 541, 1968.
- 192.- MITCISON N.A.- The dosage requirements for immunological paralysis by soluble proteins. Immunology, 15, 509, 1968.
- 193.- MITCHISON N.A.- Transplantation Immunology. En Organ Transplantation Today pag. 13. Ed. Mitchison N.A., Greep J.M. y Hattinga Verschure J.C.M. Excerpta Médica Foundation. Amsterdam 1969.
- 194.- MITO, M., ACKROYD F.W., COVELLI V.H. et al.- Partial heterotip liver homograft in dogs utilizing portal arterialization. Ann. Surg., 165, 20, 1967.
- 195.- MYBURG J.M. et al.- Corresponde a la cita 205 bis.
- 196.- MONACO A.P.- Specific Immunological Tolerance: A Potential Clinical Application of Antilymphocyte Serum. En: Cours -- International de Transplantation, Lyon 1970, pg. 15. SIMEP editions. 69-Villeurbanne. France, 1971.
- 197.- MONCHIK G.J., RUSSELL P.S.- Transplantation of small bowel in the rat: Technical and immunological considerations. Surg., 70, 693, 1971.

- 198.- MOORE F.D., SMITH L.L., BURNAPP T.K., DALLENBACH F.D. et al.- One stage homotransplantation of the liver following total hepatectomy in dogs. Transpl. Bull., 6, 103, 1959.
- 199.- MOORE F.D., BIRTCH A.G., DAGHER F., et al.-Im-muno-suppression and vascular ins-fficiency in liver transplantation. Ann.N.Y. Acad.Sci., 120, 729, 1964.
- 200.- MOORE M.A.S., OWEN J.J.T.- Stem cell migration in developing myeloid and lymphoid sys-tems, Lancet, 2, 658, 1967.
- 201.- MOORE T.C.- A Theory of the role of histamine metabolism in transplant rejection. Surg.Gynec.Obstet., 132, 489, 1971.
- 202.- MORRIS Y GAGO.- Citados por HARDY (119).
- 203.- MOWBRAY J.F.- Immunosuppressive action of ri-bonucleases. Suppl.J. Clin. Path., 20, 499, 1967.
- 204.- MOWBRAY J.F.- El problema del rechazo. The Prac-titioner (Ed. español), 62, 62, 1970.
- 205.- MULLER-EBERHARD H.J.- Chemistry and reaction me-CHANISMS of complement. Adv. Immunol. 8, 1, 1968.
- 205 bis.- MYBURG J.M., COHEN I., GECELTER L., MEYERS A.M., ABRAHAMS C., FURMAN K.I., GOLBERG B., BLERK van P.J.P.- Hiperacute rejection in human kidney allografts. Schwartzman or Arthus reactions?. New Engl.J.Med., 281, 131 1969.
- 206.- NAGEL G.A.- Fundamentos de la inmunidad tumoral en el melanoma maligno humano. Schw. Med. Woch (Ed. español), 31, 824, 1970.
- 207.- NAGORE GOMEZ E., LAHIGUERA CUENCA F.- Física y Química (Septimo Curso). E. López Mezquida Editor. Valencia.

celular. Rev. Lab. Leo, 31, 11, 1972.

- 209.- NICHOLAS J.W., JENKINS W.J., MARSH W.L.- Human blood chimeras: Study of surviving twins. Brit. Med. J., 1, 1458, 1957.
- 210.- NORMAN J.C.- Cardiac Surgery. Meredith Publishing Co. New York 1967.
- 211.- NOSSAL G.J.V.- Mechanisms of antibody production. Ann. Rev. Med., 18, 81, 1967.
- 212.- NUBOER J.F.- Opening Address. En: Organ Transplantation Today, pg. 1. Ed. Mitchison N.A., Greep J.M. y Hattinga Verschure. J.C.M. Excerpta Médica Foundation. Amsterdam 1969.
- 213.- OCHOA S.- Base molecular de la expresión del mensaje genético. Ed. Moneda y crédito S.A. Madrid 1969.
- 214.- ONO K., HATTORI T., KUSABA A., INOKUCHI K.- Prolongation of rat heart allograft survival by thiaphenicol. Surg., 71, 258, 1972.
- 215.- ORIOL ANGUERA A.- Colágeno y collagenosis. Ed. Lab. Dr. Esteve S.A. Barcelona, 1969.
- 216.- PALACIOS CARVAJAL J. de, GOMEZ SANCHEZ J.- Biología y cirugía experimental de los injertos cutáneos. Arch. Cir. Exp., 2, 23, 1958.
- 217.- PARDOE G.I., UHLENBRUCK G.- Anticuerpos anafilácticos. Deut. Med. Woch. (Ed. español), 3, 159, 1970.
- 218.- PEREZ CUADRADO S.- Estructura y síntesis de los anticuerpos (1) Prof. Med., 1022, 10, 1972.

- 219.- PEREZ TAMAYO R., LARRALDE C., KRETSCHMER R.P.-
Inmunopatología. La Prensa Médica
Mexicana. México, 1968.
- 220.- Perspectivas mas importantes de la terapéutica
inmunosupresiva. Pub. Cient. Alter.
7, 152, 1969.
- 221.- PETERSON R.D.A.- Tissue Immunity and Tissue Typing
Med. Clin. of North Am., 1, 43, 1970.
- 222.- PICHLMAYR R.- Inmunosupresion y trasplante de
órganos, Münch. Med. Woch. (Ed. español).
4, 373, 1969.
- 223.- PIERCE J.C., HUME D.M.- The effect of splenectomy
on the survival of first and second
renal homotransplants. Surg. Gynec.
Obstet., 127, 1300, 1968.
- 224.- PIULACHS P.- Lecciones de Patología Quirúrgica.
Tomo I. 1ª Parte. 2ª edición. Verga-
ra Editorial S.A. Barcelona 1955.
- 225.- PRESSMAN D., GROSSBERG A.L.- Naturaleza química
de la molécula de anticuerpo y su
área de combinación. Tribuna Médica
Revision, 8, 17, 1971.
- 226.- PRESTON F.W., MACALAD F., WACHOWSKI T.J., RANDOLPH
D.A., APOSTOL J.V.- Survival of homo-
grafts of the intestine with and ---
without immunosuppression. Surg. 60,
1203, 1966.
- 227.- PRIBNOW J.E., SILVEMAN M.S.- Studies on the ra-
diosensitive phase of the primary
antibody response in rabbits. I. The
role of macrophage. J. Immunol., 98
225, 1967.
- 228.- REEMTSMA K., LUCAS J.F., Jr., ROGERS R.E., SCHMIDT
F.E., DAVIS F.H., Jr.- Islet cell
function of the transplanted canine
pancreas. Ann. Surg., 158, 645, 1963.

- 229.- REVILLARD J.P.- Les aspects cellulaires de la
synthese des anticorps. Cah.Med.
Lyon, 46, 423, 1970.
- 230.- REVILLARD J.P.- L'hipersensibilité retardée mo-
dèle d'immunité cellulaire.Cah.Med.
Lyon., 46, 442, 1970.
- 231.- REVILLARD J.P.- Reflexions sur les conditions
et les consequences de l'activation
des lymphocytes.Cah.Med. Lyon., 46
447, 1970.
- 232.- REVILLARD J.P.- Depletion Lymphocytaire par
drainage du canal thoracique chez
a l'homme.Cah.Med.Lyon, 46, 703,1970.
- 233.- REVILLARD J.P.- Serum antilymphocyte: tests
d'immunodepression.Cah. Med.Lyon.
46., 1067, 1970.
- 234.- REVILLARD J.P.- Les Tests in vitro de l'Immuni-
té Cellulaire et leurs Applications
Cliniques.En: Cours International
de Transplantation, Lyon, 1970, pg.
59 SIMEP editions. 69-Villeurbanne.
France 1971.
- 235.- REVILLARD J.P., BROCHIER J.- Acquisitions Recentes
en Immunologie Cellulaire.En: Cours
International de Transplantation, Lyon
1970, pg. 7. SIMEP EDITIONS. 69- Vi-
lleurbanne. France 1971.
- 236.- REVILLARD J.P., FRIES D., BROCHIER J.- La toleran-
ce immunologique. Cah.Med. Lyon.,
46, 615, 1970.
- 237.- RICHTER M., MANDL M.- Immunodepression and ---
phytohemagglutinin. Lancet, 2, 894, 1967.
- 238.- ROCHA E SILVA M.- New Possibilités in the Kinin
Field.En: Homenaje al Prof. B. Lorenzo
Velazques, pg. 231. Ed. Oteo.Madrid
1971.

- 239.- ROWE D.S.- Immunoglobulinas. Tribuna Médica-
Revision, 6,3, 1971.
- 240.- SALVA LAZOMBE J.A.- Quimioterapia de los tumo-
res malignos. Farmaes, 105, 531,
1970.
- 241.- SANCHEZ ESCAMEZ E.- Las enfermedades por autoinmuni-
dad. Lecc. Cat. 91, 33, 1970.
- 242.- SCHETTLER G., ERAN Z.H.E.- Trasplante de órganos
Progreso y problemática. Rev. Inf.
Med. Terap., 10, 451, 1970.
- 243.- SCHMID F.- Evolucion de los mecanismos inmunoló-
gicos de defensa. Sandorama, 4, 4,
1967.
- 244.- SCHONE.- Citado por PEREZ TAMAYO (219 por PALA-
CIOS Y GOMEZ (216) y por NUBOER (212)
- 245.- SCHUMACHER S.- Compendio de Histologia Humana.
Labor S.A. Barcelona. 1955.
- 246.- SCHWARTZ R.S.- Immunosuppressive drugs. Proq.
Allegry, 9, 246, 1965.
- 247.- SELLE.- Citado por LILLEHEI (154).
- 248.- SEOANE PORRUA J.- Base de la terapéutica in-
munológica de los trasplantes. Rev.
Ibys, 1, 87, 1969.
- 249.- SERGENT.- Citado por FASQUELLE (83).
- 250.- SHACKMAN R.- Trasplante de riñon. The Practi-
tioner (Ed. español), 62, 25, 1970.
- 251.- SHAIPIANICH T., VANWIJCK R.R., KIM J.P., et al.-
Enhancement of rat renal allografts
with F (ab')₂ fragment of donor-
specific antikidney serum. Surg., 70
113, 1971.
- 252.- SHARFFER y UHR.- Citados por REVILLARD (229).

- 253.- SHINOI K., HAYATA Y., AOKI H., KOZAKI M., et al.- Pulmonary lobe transplantation in human subject. Amer. J. Surg, 111, 617, 1966.
- 254.- SHULMAN N.R., MARDER V.J., HILLER M.C., COLLIER E.M.- Platelet and leukocyte isoantigens and their antibodies: Serologic, physiologic and clinical studies. Progr. Hemat., 4, 222, 1964.
- 255.- SIMMONS R.L., TALLENT M.B., KJELLSTRAND C.M., NAJARIN J.S.- Kidney transplantation from living donors with bilateral double renal arteries. Surg., 69, 201, 1971.
- 256.- SNELL G.G.- The Terminology of Tissue Transplantation. Transplantation 2, 655, 1964.
- 257.- SOHIER R., HENRY M.- Caracteres, proprietes et structures des immunoglobulines. Cah. Med. Lyon., 46, 417, 1970.
- 258.- SOLASSOL C., CABASSON J., SERROU B., MICHEL H., ROMIEU C.- La transplantation pancreatique chez le chien. Aspect chirurgical et etude comparative des diverses methodes immunodepressives. En: Cours International de Transplantation, Lyon 1970, pg. 229 SIMEP EDITIONS: 69-Villeurbanne. France 1971.
- 259.- SORIANO JIMENEZ M.- Sintesis medica 1969, Volumen XVI, pg. 5. Lab. Wassermann.
- 260.- SSOBOLEW.- Citado por LILLEHEI (154).
- 261.- STARZL T.E., KAUPP H.A., BROCK D.R., LAZARUS R.E., JOHNSON R.V.- Reconstructive problems in canine liver homotransplantation with special reference to the postoperative role of hepatic venous flow. Surg. Gynec. Obstet. 111, 733, 1960.

- 262.- STARZL T.E., MARCHIORO T.L., VON KAULA K.,
HERRMANN G., BRITAIN R.S.,
WADDEL W.R.- Homotransplantation
of the liver in humans. Surg.Gynec
Octet.117, 659. 1963.
- 263.- STARZL T.E.- Experience in Renal Transplantation
Saunders Co. Philaderphia, 1964.
- 264.- STARZL T.E., GROTH C.G., TERASAKI P.I., et al.--
Heterologous antilymphocyte globulin
histocompatibility matching and hu-
man renal homotransplantation.Surg.
Gynec.Obstet, 126, 1023, 1968.
- 265.- STARZL T.E., GROTH C.G., BRETTSCHEIDER L., PENN
I., et al.- Orthotopic homotransplan-
tation of the human liver. Ann.Surg.
168, 392, 1968.
- 266.- STARZL T.E., BRETTSCHEIDER L.- Trasplante de
tejidos y órganos.En: DAVIES,
L -Christopher, Tratado de Patologia
Quirurgica, 9^a Ed., pag. 1282.Ed.
Interamericana S.A. México, 1970.
- 267.- STEPHENSON H.E., Jr, TERRY C.W., LUKENS J.N.,
et al.- Immunologic factors in
human melanoma "metastatic" to
products of gestation (with exchan-
ge transfusion of infant to mother). S
69, 515, 1971.
- 268.- STREILEIN J.W., HILDRETH E.A., RAMSEIER H.,
KORNBLUM J.- The irradiated hamster
test. A new method of donor selec-
tion for homotransplantation in man
Ann. Intern.Med., 65, 511, 1966.
- 269.- STUART F.P., SAITOH T., FITCH F.W.- Rejection
of renal allografts : specific in-
munologic suppression. Science 160,
1463, 1968.
- 270.- STUART F.P., SAITOH T., FITCH F.W., SPARGO
B.H.- Immunologic enhancement of
renal allografts in the rat.Surg.,
64, 17, 1968.

- 271.- STUART F.P., GARRICK T., HOLTER A., LYNCH A.,
BASTIEN E..- Delayed rejection of
renal allografts in the rat and
dog by reduction of passenger leu-
kocytes. Surg,m 70, 128, 1971.
- 272.- TERASAKI P.I., McCELLIAND J.D..- Microdoplet asay
of human serum cytotoxins. Nature
204, 998.- 1964.
- 273.- TERASAKI P.I., VREDEVOE D.L., PORTER K.A.,
MICKEY M.R., et al..- Serotyping
for homotransplantarion. V. Evalua-
tion of a matching scheme. Trans-
plantation, 4, 688, 1966.
- 274.- THIVOLET J., MONIER J.C..- Les fonctions immuno-
logiques du thymus.Can.Med. Lyon.,
46, 627. 1970.
- 275.- TOMASI T.B..- Conceptos de actualidad: Inmuno-
globulina Humana A. New Engl. J.
Med. (Ed.español), 46, 20, 1970.
- 276.-TOPLEY W.W.C., WILSON G.S..- Bacteriologia e
Inmunidad.Salvat Ed. S.A. , Barce-
lona 1942.
- 277.- TOURAINE J.L..- Resume de la Presentation de Do-
ssiers Cliniques. En: Cours Inter-
national de Transplantation,Lyon
1970, pg. 159 SIMEP editions. ---
69-Villeurbanne.France 1971.
- 278.- TRAEGER J., PERRIN J., FRIES D., SAUBIER E., et
al..- Utilisation chez l'homme d'une
globuline antilymphocytaires: Resul-
tats cliniques en transplantation
renales.Lyon Med., 5, 307, 1968.
- 279.-TRAEGER J..- Experience clinique avec le serum
antilymphocytaire.Cah.Med.Lyon.,
46, 1075, 1970.

- 280.- Tratamiento del cancer con citostaticos. 1ª parte. Farmaes, 103, 263, 1970.
- 281.- TRNKA Z.- Les Groupes Leucocytaires. Standardisation des Reactifs de Typage Tissulaire. En: Cours International de Transplantation, Lyon 1970, pg. 117, SIMEP editions 69-Villeurbanne France 1971.
- 282.- TURK J.L.- La reaccion inmunitaria de tipo TARDIO y su significacion en Medicina. Triangulo 7, 275, 1967.
- 283.- UCHIDA H., RUIZ J.O., SCHULTZ L.S., LILLEHEI R.C.- New Techique of one-stage heterotopic pancreaticoduodenal autotransplantation in dogs. Surg., 70, 604, 1971.
- 284.- UHR J.W., MOLLER G.- Regulatory effect of antibody on the immune response. Adv. Immunol. 8, 81, 1968.
- 285.- ULLMANN.- Citado por NUBOER (212).
- 286.- VALENTINE F.T.- Cultures de lymphocytes. Cours de Perfectionnement sur les Transplantations d'Organes, Lyon, Mayo 1970. Comunicacion personal.
- 287.- VAN DER HEYDE, M.N., SCHALM, L., VINK M.- The role of functional competition in auxiliary liver transplantation. Transplantation, 5, 78, 1967.
- 288.- VAN LOGHEM J.J.- Transplantation Immunology. En: Organ Transplantation Today, pg. 11. Ed. Mitchison N.A., Greep J.M. y Hattinga Verschure J.C.M. Excerpta Médica Foundation. Amsterdam 1969.
- 289.- VAN ROOD J.J., VAN LEEWEN A.- Leukocyte grouping a method and its application. J. Clin. Invest., 42, 1382, 1963.
- 290.- VAN ROOD J.J., EERNISSE J.G.- The detection of Transplantarion antigens in leukocytes. En: Organ Transplantation Toda

pg. 43, Ed. Mitchison N.A.,
Greep J.M., y Hattinga Verschure J.C.M.
Excerpta Médica Foundation, Amsterdam
1969.

- 291.- VIVES MANE J.- Accion de los corticoides sobre el tejido linfoide. En: Síntesis Médica 1969, Vol. XVI, pag. 141 (Hematologia). Lab. Wassermann.
- 292.- VOISIN G.A.- Anticorps de transplantation et facilitation immunologique. Cah. Med. Lyon., 46, 495, 1970.
- 293.- WARSMAN H.B., ARBOUYS S., ARNSON B.C.- Use of specific "lymphocyte" antisera to inhibit hypersensitive reactions of the "delayed" type. J. Exp. Med. 114, 997, 1961.
- 294.- WHITE R.J., WOLIN L.R., MASSOPUST L.C., Jr. TASLITZ N., VERDURA J.- Cephalic exchange transplantation in the monkey. Surg., 70, 135, 1971.
- 295.- WILLIAMS G.M., LEE H.M., WEYMOUTH R.E., et al.- Studies in Hyperacute and chronic renal homograft rejection in man, Surg., 62, 204, 1967.
- 296.- WILLOUGHBY.- Citado por REVILLARD (231).
- 297.- WOLSTENCROFT R.- Les lymphokines, substances actives liberées par les lymphocytes stimulés. Cours de Perfectionnement sur les Transplantation d'Organes, Lyon, Mayo 1979. Comunicacion personal.
- 298.- WOODRUFF M.F.A., ANDERSON N.F.- Effect of lymphocyte depletion by thoracic duct fistula and administration of antilymphocytic serum on the survival of skin homografts in rats. Nature, 200, 702, 1963.

- 299.- WOODRUFF M.F.A., ANDERSON N.F..- The effect of lymphocyte depletion by thoracic duct fistula and administration of antilymphocytic serum on the survival of skin homografts in rats. Ann. N.Y. Acad. Sci. 120, 119, 1964.
- 300.- WOODRUFF M.F.A., NOLAN B., ROBSON J.S., MAC DONALD M.K..- Experience with renal transplantation in man. Lancet 1, 6, 1969.
- 301.- WOODRUFF M.F.A..- Immunosuppression by antilymphocytic serum. En: Organ Transplantation Today, pg. 90. Ed: Mitchison N.A., Greep J.M. y Hattinga Verschuere J.C.M. Excerpta Medica Foundation Amsterdam 1969.
- 302.- Workshop on Organ Preservation (Report of Meeting). Surg., 69, 321, 1971.
- 303.- YACHNIN S..- Functions and Mechanism of Action of Complement. New Engl. J. Med. 274, 140, 1966.
- 304.- ZAPATERO BALLESTEROPS E..- Manual de Microbiología Médica. Ed. Aldus S.A. Santander, 1951.
- 305.- ZUSKOSKI C.F., SACHATELLO C.R., TINSLEY E.A..- Prolongation of canine renal of complement. Sur., 58, 167, 1965.